

## 第 35 回日本化学療法学会西日本支部総会

会期：昭和 62 年 11 月 27 日～28 日

会場：鹿児島市民文化ホール

会長：大井好忠（鹿児島大学医学部泌尿器科教授）

## 特別講演

## 薬剤耐性菌の現況とその対策

原 耕 平

長崎大学医学部第二内科

はじめに

近年各種抗菌剤の開発には目ざましいものがあるが、これらの新しい抗菌剤の登場は、各種感染症の病態や病原菌の頻度に大きな変遷をもたらし、また臨床材料からの各種分離菌の抗菌剤に対する耐性度にも大きな影響を与えている。したがって、私共感染症を取り扱う医師にとって、その薬剤耐性の現状を知ることは極めて重要なことと考えられる。

## 1. 抗生物質の登場

新しい抗生物質の登場によって、各種の検体から分離される検出菌の頻度とその耐性度に変化がみられることは当然のことである。そこで、長崎大学附属病院における各種抗生物質の使用状況を調べてみた。

ペニシリン系は 1980 年をピークにして使用の頻度がやや減少し、最近の 5 年間では横ばいの状態になっていた。またセフェム系では 10 年前にはほぼペニシリン系と同じ程度の使用量で現在もその絶対量は変わっていないが、1980 年から第 2 世代、1982 年から第 3 世代のセフェム系が使用されるようになり、漸次その占める比率が多くなってきていた。その他の薬剤については、ST 合剤が一貫してその使用頻度が多く、その他リンコマイシンやクリンダマイシン、アミノグリコシド、マクロライド系やテトラサイクリン系などが少量ながら使用されていた。ユーキノロンは 1984 年より使用され始めて、漸次その量が増えてきていた。

## 2. 分離病原菌の推移

このような新しい抗生物質の登場とその使用によって、菌の分離頻度にも変化がみられる。全検体においては、大腸菌、クレブシエラ、プロテウス、セラチアなどの腸内細菌群が 1976 年頃から減少の傾向をみせ、さらに第 2 世代や第 3 世代セフェム系抗生物質の登場によって著しく減少してきた。緑膿菌はここ 15 年間殆どその頻度は変わっていない。これに対し、腸球菌はやや増

加、黄色ブドウ球菌は 1973 年から 1980 年にかけて減少を示したものの、1982 年頃から再び増加を示していた。この黄色ブドウ球菌の推移は、ゲンタマイシン、第 1 世代セフェム、ミノサイクリンの登場によって一時減少したものの、第 3 世代のセフェム剤が使用された 1981 年頃から再度増加したものと思われた。

喀痰からの分離率をみると、腸内細菌群は減少、インフルエンザ桿菌はやや減少、肺炎球菌やレンサ球菌、緑膿菌は不変、ブドウ球菌と腸球菌はやや増加の傾向を認め、また尿中の分離菌にも、腸内細菌群の減少と腸球菌の 1984 年における著増がみられた。

## 3. 耐性菌の推移

## A. グラム陽性菌

a) レンサ球菌属：*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* とともに、その耐性の限界を  $5 \mu\text{g/ml}$  以上の高度でとった場合、ゲンタマイシンを除けば、エリスロマイシンに 1.7～4.8%、ミノサイクリンに 8.3～13.3% に耐性株が認められた。ペニシリン系抗生物質には高感受性を示し、セフェム系に対しても  $0.5 \mu\text{g/ml}$  以下でみた場合、ほとんどが感受性であった。

1977 年～1978 年にかけて、Devitt らや Jacobs らはオーストラリア、ニューギニア、南アフリカにおいてペニシリン系ほか多剤に耐性の肺炎球菌の出現を報告しているが、日本においてもこれら耐性の出現に対し嚴重に追跡する必要がある。

b) 黄色ブドウ球菌：セファゾリンに対し 1983 年には 6.9% 耐性であったものが、1986 年には 15.2% と急増した。また本菌種はその 84.7% が  $\beta$ -ラクタマーゼを産生しており、これらの株はすべて従来のペニシリン系に対して耐性であった。その他ゲンタマイシン、エリスロマイシンの耐性の頻度も増加していた。私達の成績ではクロキサシリンにはなお耐性度が低かった。メチシリン・セフェム耐性のブドウ球菌に対する治療剤としては、ミノサイクリンが感受性の面からもよく、フェスミシンとセフェム系抗生剤との併用、あるいはセフゾナムやイミペネムなどが有用であろうと考えられた。

c) 腸球菌：1979 年頃から増加の傾向をみせているが、これはおそらく第 3 世代のセフェム剤の使用による

影響と考えられた。*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* の3種の臨床材料からの分離頻度は7:2:1で、大部分が immunocompromised host でステロイドや抗癌剤、広域抗生剤の使用されていた例で分離された。

*E. faecalis* ではその95%以上の株がセフトゾキシムとセフメノキシムを除いた多くのセフェム剤に5 µg/ml以上のMIC値を示しており、ペニシリン系抗生剤には5 µg/ml以上の株はわずか2%しかみられなかった。しかし、*E. faecium* には耐性株の頻度が高く、かつ高度耐性を示す株が多く、アンピシリンにもMIC 5 µg/ml以上の株が約87%存在した。*E. avium* の感受性はほぼこの両者の中間であった。

#### B. グラム陰性菌

a) インフルエンザ桿菌: β-ラクターマーゼ産生株の頻度は、1983年には10.4%であったものが、1986年には13.5%と増加がみられた。またペニシリン系にはβ-ラクターマーゼ非産生株では97%の株が0.5 µg/ml以下のMICで発育が阻止されたのに、産生株の場合は2~4%しか存在せず、5 µg/ml以上の耐性株が88%も認められた。しかし、第3世代セフェム剤には、いずれの株も高度感受性を示した。ミノサイクリンやクロラムフェニコールには、β-ラクターマーゼ産生株でわずかながら耐性の株が存在した。

β-ラクターマーゼ産生株に対する対策としては、β-ラクターマーゼ阻害剤を配合したCVA/AMPCやSBT/AMPCの使用、第3世代セフェム剤やニューキノロン、モノバクタム、イミベネムなど、多くの抗生剤が未だ存在しているものと思われた。

b) プランハメラ・カタラーリス: β-ラクターマーゼ産生株は63.3%で、これらの多くは0.5 µg/ml以上のMICを示した。

c) 腸内細菌群: 大腸菌, クレブシエラ, プロテウスをはじめとする腸内細菌群は、各種の二次的な感染症に関与する菌として注目されているが、近年第2ないしは第3世代のセフェム剤の使用によって、各種検体からの分離頻度が減少してきている。

大腸菌, クレブシエラ, *P. mirabilis* における耐性の頻度は低く、かつ類似のパターンをとった。しかし、*P. mirabilis* は依然としてペニシリン系に多くの株が感性を保っていたのに、大腸菌やクレブシエラはその半数の株がMIC 5 µg/ml以上を示し(とくにクレブシエラでは75%)、また第1世代セフェムのセファゾリンにも1 µg/mlのMICを示す株がかなり認められた。

*P. vulgaris* やモルガネラなどにおいては、各種の抗生剤に高度耐性を示すものが多く、第1世代セフェムには殆どの株が耐性を示し第2ないしは第3世代のセフェム

剤においても25 µg/ml以上の耐性を示す株が25%から100%の頻度で認められた。アミノグリコシド系のゲンタマイシンにはセラチアや*P. vulgaris* では耐性株が30~50%の幅でみられ、これは今後の治療に参考にするべきと考えられた。

これらの成績を総合すると、これら腸内細菌群の感染症には、一部を除けば今のところ第3世代のセフェム剤で充分対処でき、これにアミノグリコシドや、さらにアズスレオナムやイミベネムなどを、感受性をみたまで適宜選択していけば、十分な臨床効果が得られるものと考えられた。

d) 緑膿菌: ブドウ糖非発酵性グラム陰性菌の代表的なものであるが、臨床材料の分離菌の中で常に高い頻度を占め、菌交代症を惹起するものとして重要な位置を占めている。

5 µg/ml以上のMICを示す株はスルベニシリンで89%、ピペラシリンで57%、セフスロジンで46%、セフォペラゾンで56%、それにゲンタマイシン、アミカシン、ディベカシンなどでは45~70%で、25 µg/ml以上のMICを示す株はアミカシンが最も少なく14%であった。これらの感受性パターンからみると、緑膿菌感染症の治療では、感受性検査の成績を重視してその使用抗生剤を選択する必要があると思われた。

イミベネム、アズスレオナム、ニューキノロンはこれらの耐性菌にもかなりの抗菌力を示すことから、臨床面における位置づけも重要なものとなろう。

#### C. 嫌気性菌

その代表的な菌株であるバクテロイデス属の薬剤感受性をみると、MICが5 µg/ml以下の感性株はメトロダゾール、ミノサイクリンが最も多く、次いでクリンダマイシン、クロラムフェニコールの順で、その頻度は約75~95%に及んでいた。一方100 µg/ml以上の高度耐性株はエリスロマイシンやクリンダマイシン、セファマイシンにみられ、18~27%と高頻度であった。

#### 4. ニューキノロンの耐性

新しいピリドンカルボン酸系抗菌剤は1984年より使用され始めたが、1986年と1987年の2年にわたる耐性度をノルフロキサシンについて調べてみた。大腸菌, クレブシエラ, *P. mirabilis* ではほとんど耐性化が認められなかったが、モルガネラでは軽度増加、エンテロバクターでは25 µg/ml以上の耐性株が本年になって急速に増加、*P. vulgaris* やサイトロバクターにおいては100 µg/mlの高度耐性株が増加の傾向にあることが示された。

おわりに

私達は数多い抗生物質を、耐性化が進まぬよう、新旧取り混ぜて、うまく組み合わせ使っていく必要がある

うことを強調したい。

## 会 長 講 演

### 尿路性器感染実験

大 井 好 忠

鹿児島大学医学部泌尿器科

系統的に実験的腎盂腎炎の作製が試みられたのは、1917年の HELMHOLZ らの家兎における実験が最初であると思われる。その後、血行感染、上行性感感染の手技を用いて、腎盂腎炎成立の条件が検討されてきた。1921年 LEPPER, 1932年 KENNEDY は家兎を用いて経静脈性、静脈内接種と尿管結紮または尿管内接種と尿管結紮により、腎盂腎炎の成立をみている。教室では KENNEDY の方法を modify し、菌液を尿管内に注入後に、尿管狭窄をつくり家兎に腎盂腎炎を作製してきた。この家兎腎盂腎炎を用いて、各種細菌の感染成立条件を検討するとともに、易感染のレセプターの腎ネフロンにおける発現についてもレクチンを用いて検討した。

哺乳動物における自然発症の副睾丸炎は牛・羊でみられる。しかし実験的副性器感染症は系統的には完成されていない。家兎の精管内に菌液を注入後に精管を結紮することにより、副睾丸炎の成立をみた。ラットでは同様の方法では副睾丸炎の成立は低率であり、精管内尿逆流を模した実験系で前立腺炎、副睾丸炎の成立が高率となった。これらの実験成績について報告する。

#### 1. 尿路感染症分離菌による家兎腎盂腎炎の成立

尿路感染症患者から分離した *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *P. aeruginosa* を  $10^{2-3}$ /ml,  $10^{7-9}$ /ml 接種後1週間後に動物を屠殺して細菌学的・病理組織学的に検討した。その結果接種菌量に無関係に全例腎盂腎炎の成立を認めた。対照として使用した *B. subtilis*, *S. marcescens* では腎盂腎炎の成立を認めなかった。ひきつづき施行した実験結果から、*E. coli* では20羽中19羽(95%), *P. mirabilis* は32羽中29羽(90.6%), *P. aeruginosa* は20羽全例(100%)に腎盂腎炎の成立を認め、計72羽中68羽(94.4%)の感染成立率を得た。したがって手技に習熟すれば100%の感染成立が得られることが期待された。

#### 2. *E. coli* NIH-JC 2株による家兎腎盂腎炎の成立過程

菌液  $10^9$ /ml 接種1年後まで感染の推移を検討した。24時間後は腎盂炎、48~72時間は急性腎盂腎炎期、1週間はその極期である。1か月以降は慢性腎盂腎炎に移行し、3か月以降は腎盂腎炎性萎縮腎へと推移した。6か月、1年後には典型的萎縮腎となった。*P. aeruginosa*

NCTC 10490 株でも同様の所見であった。1か月以降には生菌は証明されなかった。

3. 家兎腎盂腎炎のレクチンによる糖組織化学的検討  
正常家兎9羽を対照として、腎盂腎炎群38羽、水腎症群10羽について検討した。

正常家兎腎について、9種類のレクチン染色性をネフロン各部について検索した後、HRP 標識の PNA, DBA, BSA-1, WGA を主として用いて検討した。DBA, BSA-1, WGA では正常腎と比べて、腎盂腎炎腎ではネフロン各部の染色性の変化はみられなかった。しかし PNA ではヘンレ上行脚太脚起始部が腎盂腎炎作製24時間後から染色陽性に変化し、長期観察群でも同様であった。

尿管結紮を行なうと3時間以降に同部位に PNA 陽性所見が認められた。これは PNA に特異的に染色される D-Gal- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-Gal Nac (糖鎖) が出現することを示している。この糖鎖が尿路閉塞腎において易感染性を高める原因と考えられた。

4. Compromised host における腎盂腎炎の成立条件  
*S. marcescens* 伝研株、神戸大 No. 6 株では前述の方法では家兎に腎盂腎炎を発症することはできなかった。*S. marcescens* IFO 12648 株ならびに UTI 分離株では成立した。

家兎に cyclophosphamide 2, 5 mg/kg を1週間筋注すると末梢白血球・リンパ球の減少が得られたので、この動物に腎盂腎炎を発症しなかった菌株を接種することにより腎盂腎炎の成立を認めた。

*P. cepacia*, *P. (X.) maltophilia* による家兎腎盂腎炎の成立は軽微であり腎乳頭部に限局する。Cyclophosphamide 2, 5 mg/kg 1週間筋注後に両菌を接種すると、限局性の腎盂腎炎が成立がみられる動物もあるが、感染率は一定しない。Cyclophosphamide, prednisolone 各 100 mg を3, 5日連続静注すると末梢白血球・リンパ球は減少するが、回復は早い。48時間後に1回追加投与すると回復は遅延する。これらの前処置を行なった後に両菌を接種すると、腎皮質にも感染所見がみられるが、組織学的所見は軽度である。両菌を接種後に尿管結紮を行ない尿流を途絶すると、組織学的所見はより高度となった。その他の *Pseudomonas* 属菌でも同様であり、これらの細菌による家兎での腎盂腎炎成立のためには、免疫抑制と尿流閉塞の両者、つまり全身性・局所性の要件が必要であると考えられた。

#### 5. 家兎副睾丸炎の成立

家兎の精管内に *E. coli* NIH-JC 2, *S. aureus* 209 P, *P. aeruginosa* NCTC 10490 を接種し1週間後に細菌学的・組織学的に検討した。*P. aeruginosa* 接種群の1羽

にのみ典型的副睾丸炎の成立を認めた。睾丸の造精障害は全例にみられた。これらの菌液を接種後に精管に狭窄をつくり、さらに接種菌量を $10^8$ から $10^9$ に増量して検討したが、副睾丸炎の成立はみられなかった。そこで菌液接種後に精管を結紮した。*E. coli*と*P. aeruginosa*では典型的副睾丸-睾丸炎の成立を認めた。しかし*S. aureus*では生菌を認め、睾丸の造精障害はみられるものの副睾丸炎は成立しなかった。*E. coli* NIH-JC 2株を精管内に $10^8$ 注入し精管結紮して観察した結果、24時間後には精管炎、48時間後は副睾丸炎の成立を認め、1週間後には臨床例でみられるような睾丸-副睾丸炎が完成した。*P. aeruginosa* NCTC 10490株でもほぼ同様の感染成立過程であった。この実験系における感染成立要因は、菌液接種と精管結紮により精子伝送能を担う副睾丸管上皮のせん毛が破壊される結果、細菌の排除が不能となり、副睾丸炎が成立するものと考えられた。

#### 6. ラットにおける副性器感染実験

Wistar ラット、体重 350~500 g を用いて、精管から *E. coli* NIH-JC を  $10^8$  個睾丸方向と前立腺方向に注入し、精管を二重結紮した。1週間後の培養成績で 12 匹中 10 匹に睾丸・副睾丸・精囊から当該菌を証明し、前立腺は 9 匹に陽性であった。しかし、感染成立は副睾丸炎 58%、前立腺炎 11% にみられたのみであった。副

睾丸炎が成立した動物では家兎と同様に副睾丸管は破壊され間質に感染は波及し、精細管は硝子様変性を来した。同菌液を接種し精管結紮の術中尿道をリレンメで挟んでおくと、前立腺炎の発症率は 71% に上昇した。

精管内にラット尿を注入すると 48 時間後には副睾丸管のせん毛障害ならびに精細管の精子形成能は阻害される。これに精管結紮を加えると造精障害はさらに増強された。48 時間前にラット尿を精管内に注入しておく、*E. coli* を接種後精管結紮をしないで 100% 前立腺炎が発症した。しかし副睾丸炎は全く発症しない。ラット尿で前処置し、菌液接種後に精管を結紮すると、副睾丸炎の発症率は 75% となったが、前立腺炎の発症は 75% となった。*E. coli* の培養液を浸した細いカテーテルを尿道内に 10 分間留置する操作を週 2 回計 3 回施行すると、1 匹にのみ前立腺炎が成立した。経尿道的に *E. coli* を膀胱内に注入すると 80% に前立腺炎が発症した。

#### まとめ

抗菌化学療法の実験モデルとしての動物実験感染症は 100% の感染症と均一な感染病巣が成立することが肝要である。家兎における腸内細菌、緑膿菌を用いた腎盂腎炎ならびに副睾丸炎は完成された実験モデルといえる。

しかしラット副性器感染実験では適切な菌種の選択、手技の開発が必要である。

## シンポジウム (I)

## 転移病巣に対する抗癌化学療法

司会のことば

服部 孝雄

広島大学原爆放射能医学研究所外科

大森 弘之

岡山大学医学部泌尿器科

各臓器の早期癌に対する治療成績は、手術適応の確立、手術手技の向上、医療機器の進歩などに支えられた術後管理の向上、的確な adjuvant therapy の施行などによって着実に向上しつつある。しかし、遠隔転移を有する進行癌の治療成績は、集学的治療の積極的な応用にもかかわらず、今日、決して満足すべき実績が示されているとはいえない。このことは、とりまおさず、転移病巣に対する治療の困難さが大きな原因の一つであることを表わしているといえる。いかえれば、転移こそが悪性腫瘍の治療に限界をもたらしている大きな要因であるといえることができる。

一方、集学的治療の一翼を担う化学療法については、新しい抗癌剤の導入、投与方法の開発、工夫、効果増強のための種々の試みなどによって、その評価が高まりつつある。この抗癌化学療法をいかに適切に転移病巣に応用するかが、進行癌の予後改善の一つのカギを握っているものと考えられる。また、当然のことながら、転移を来した腫瘍の組織型、転移病巣における進展様式の相違などによって、化学療法に対する感受性、反応もおのずから異なるはずである。その他、他の部位への転移の有無、対象とする症例の performance status なども、治療方針を立てる上での重要な factor となる。

本シンポジウムでは、転移病巣の中で、血行性転移の代表的なものである、肺、肝転移を中心に挙げ、内科、外科、婦人科、泌尿器科の4分野の講師の方々に、各臓器からの転移の実態と、それに対する今日までの治療成果を報告していただくとともに、転移病巣に対する抗癌化学療法の問題点を明らかにし、それをいかに解決するかについて討論を展開していただいた。

まず曾根三郎氏から、総論的に、原発巣と転移巣の組織型の相違について、それをいかに判定し、克服するか、また、化学療法と宿主因子のかかわり、すなわち、宿主状態を考慮した化学療法のあり方が述べられた。次に古武敏彦氏より、卵巣腫瘍の転移巣に対する PVB 療法の成績をもとに、治療成績は腫瘍の大きさ、組織型に左右され、難治例に対する的確な salvage 療法として手

術療法が有力であるなどが述べられた。松村陽右氏は、進行膀胱癌に対する種々の多剤併用化学療法の効果を示し、その成績から、奏効期間が短く、期待した生存期間の延長がもたらされないこと、化学療法が既往に行なわれている場合の有効率が低いことなどから、計画的な治療の必要性、さらに有効な化学療法の開発の必要性を強調した。大塚泰亮氏は、内科の立場で転移病巣に対処する場合、まず原発性癌との鑑別が必要となること、転移性癌はあらゆる臓器の腫瘍からの転移であるので、原発巣とその組織型を知ることが、至適治療計画を立てる上で重要であると述べ、代表的な腫瘍の転移に対する化学療法の成績が示された。次いで、切除療法の立場から、安元公正氏は、肺転移巣に対して施行した切除療法の良い成績を示すとともに、手術適応基準を示したが、化学療法に感受性の高い腫瘍では、手術前に化学療法を行ない、その無効例に対して切除療法を適用すべきであるとしている。薬師寺道明氏は、卵巣腫瘍の肺、肝転移に関して、その治療法の歴史の変遷を述べるとともに、cisplatin を含む化学療法の有効性を示した。沖田 穂氏は、消化器癌の肝転移に対する過去 10 年間の化学療法の成績を述べ、化学療法により延命が得られることを示すとともに、患者の quality of life を考慮して治療法を選択すべきことを強調した。新本 稔氏は、転移性肝癌には、まず、手術可能であれば、術前に塞栓動注を行ない、可及的に切除し、もし残存すれば熱凝固術を施行するという治療方針を示し、術後および手術不能例に対して積極的に動注療法を行なうべきであると述べた。

以上の各講師の発表の後、浮きぼりにされた種々の問題点について討論がなされたが、結論的には、現時点でも、適切な化学療法を選択、応用することにより、明らかに抗腫瘍効果が得られ、一応の延命が期待できることが示された。しかし、その成績は決して満足すべきものではなく、さらなる努力によって、一層の向上が計られることが期待される。本シンポジウムが、将来の進歩にとっていささかでも有意義な示唆を提示し得たとすれば、司会者としては望外の幸せと考える。

## 1. 転移巣に対する抗癌化学療法の問題点

曾根三郎

徳島大学医学部第三内科

癌に対する抗癌化学療法の進歩は、近年目ざましいものがあるも、今なお癌患者の主な死因は癌転移が大きな誘因となっている。剖検時において転移頻度の多い臓器としては、肺、肝、骨、副腎、などがあげられる。癌転移は、本来、多臓器にわたり散発的に発生するという性

格をもつことから、治療法としては抗癌化学療法が中心的な役割を担うべきであることは申すまでもない。癌転移に対する癌化学療法は原発臓器およびその組織型により、その成績はかなり異なっていることから、その診断は前提条件となる。転移癌に対する抗癌化学療法は、通常原発癌に対し最も有効な抗癌剤が用いられているが、転移臓器による感受性の違い、あるいは転移巣間での反応性の違いなどが臨床場で知られている。しかし、全体的には満足のいく治療結果が得られていないのが現状である。しかし、最近の大きな特徴としてはシスプラチンが種々の転移性癌の治療に用いられ、ある種の転移癌に対する治療成績は近年著しく改善されつつある。

癌化学療法剤による転移癌に対する治療効果を高める上で、いくつかの問題点が解決されねばならない。実験癌のみならず、臨床での癌も、それも構成する癌細胞は均一でなく、heterogeneousな細胞亜集団からなっていることが確かめられている。例えば、個々の癌から分離した個々の細胞は、形態、免疫原性、増殖性、膜表面レセプター、酵素マーカー、あるいは抗癌剤感受性などにおいて異なる性質をもった不均一な細胞亜集団からなることが知られる。癌細胞は転移能においても heterogeneousな細胞亜集団からなる。このように、癌を特徴づける重要な性質の一つに、heterogeneityがあげられる。それらの heterogeneityの中で、癌転移治療法の確立という点では、一つに癌細胞のもつ遠隔転移のコントロールがあり、他の一つは癌細胞が獲得する抗癌剤耐性化現象の克服である。例えば、マウスおよびヒトメラノーマを用いて種々の転移性癌細胞株の抗癌剤に対する感受性の検討では、原発巣癌細胞の感受性成績と必ずしも同じでないこと、さらにいろいろな遠隔転移巣からの細胞株間にも抗癌剤に対する感受性を異にすることなどが明らかとなっており、癌転移に対する癌化学療法剤の治療効果は一様に期待できない可能性が指摘されている。一方、第二の問題である抗癌剤耐性化獲得現象は、抗癌剤感受性癌においても癌化学療法による癌治療を凶る上で大きな障壁となる。癌の進展に際しては、転移能を獲得した癌細胞はさらに抗癌剤耐性をも獲得することができるし、抗癌剤耐性を獲得した癌細胞はさらに転移能をも獲得することが可能である。すなわち、これら2つの phenotypeが同時に個々の癌細胞に獲得されることは、癌転移に対する抗癌化学療法を確立する上で大きな問題を投げかけている。抗癌剤耐性克服のための発現機構に関与する代謝機転の修飾操作および耐性化を惹起しにくい新しい抗癌剤の開発研究が精力的に進められているが、転移癌のもつ特性に基づいた癌化学療法確立にはいまだ遠い現状にある。転移癌治療法確立に向けての今

後の研究課題としては、第一に、強力な抗癌剤の開発は最も重要な点であることはいうまでもないが、第二には、現在既に開発された抗癌剤の有効性を高めるための併用療法の工夫が重要な課題である。すなわち、抗癌剤の到達性向上のための投与劑型および方法(動注法、TAEなど)の選択、モノクローナル抗体、リポソームなどをキャリアーとした標的化、抗癌剤感受性増強のための温熱療法、放射線療法、耐性克服剤の併用。一方、抗癌剤感受性癌に対する強力な化学療法を遂行するためにも骨髄抑制に対する自家骨髄移植あるいはG-CSF投与などによる対策。生体のもつ非特異的癌抵抗性はいろいろなサイトカインの相互反応の結果発現されており、それらは遺伝子組換え型の形で大量生産され、いくつかは臨床試験にある。その中でIL-2活性化キラー(LAK)細胞及び活性化マクロファージによる細胞障害作用は癌細胞の heterogeneityとは関係なく発現されることから、抗癌化学療法との併用にてその有効性が発揮されるものと注目されている。

以上、癌転移を抗癌化学療法にて制御し、治癒いたらしめるには、外科療法も含め、以上のいろいろな抗癌療法を組み合わせた集学的アプローチが今後の課題であり、大いに期待したい分野でもある。

## 2. 消化器癌の肝転移に対する化学療法

沖田 極・新開泰司・古川哲也

水上むつみ・竹本忠良

山口大学医学部第一内科

はじめに

われわれの経験する肝転移を有する消化器癌における化学療法の現状は大変に厳しい。

その理由の一つは、内科側で取り扱う症例のほとんどが最近話題になっている肝転移病巣の外科的切除の対象にもならない、いわばターミナル・ステージの患者であるからである。そこで本シンポジウムでは、われわれの施設における転移性肝癌の内科的治療の現状を紹介し、今後の本疾患の治療のあり方について考察した。

### 1. 対象ならびに方法

対象は1978年から1987年の10年間に経験した肝転移を有する消化器癌77症例である。

原発巣別の症例の内訳は、胃癌21症例、肺癌26症例、大腸癌10症例、胆道癌(胆のう癌を含む)20症例である。

化学療法の有効性については、次のような治療法別に生存期間(Kaplan-Meier法)を無治療群との比較により検討した。すなわち、a)全身投与群(「全」群):5-

FU (経口, 経静脈), tegafur (経口), carmofur (経口), マイトマイシン (経静脈), アドリアマイシン (経静脈), OK-432 (皮下注) などの化学療法を施行された群, b) 局所投与群 (「局」群): 肝血管造影時に, カテーテルを介して化学療法剤を選択的に転移病巣に注入する, c) 特殊な対症療法施行群 (「対症」群): 肝転移を有する消化器癌の多く (特に, 膵癌や胆道癌) は高度の閉塞性黄疸を併発し, 肝不全で死亡するので, これが予測される疾患では診断時に ERBD (endoscopic retrograde biliary drainage) を予防的に設置する。

## 2. 成績

1) 胃癌: 肝転移を有する胃癌 21 症例の化学療法の内訳は, 「全」群 9 症例, 「局」群 7 症例で, 無治療群 5 症例であった。それぞれの 50% 生存期間は「全」群で 2 か月, 「局」群で 7 か月であり, 「無治療」群の 1 か月に比べ延長した。Kaplan-Meier 生命表での比較では, 「全」群は「無治療」群に比べ危険率  $p < 0.05$ , 「局」群は「無治療」群に比べ危険率  $p < 0.01$  で有意な生存期間の延長を認めた。

2) 膵癌: 肝転移を有する膵癌 26 症例の化学療法の内訳は, 「全」群 2 症例, 「局」群 6 症例であった。これを「無治療」群 10 症例の生存期間と比較すると, 50% 生存期間はいずれも 1 か月程度であり, 化学療法による延命効果は全く認められなかった。ところが, ERBD を施行した 8 症例の 50% 生存期間は 6 か月であり, 「無治療」群に比べ危険率  $p < 0.05$  で有意な生存期間の延長をみた。

3) 胆道癌: 肝転移を有する胆道癌 20 症例について化学療法の効果をもてみると, 「全」群 (1 症例), 「局」群 (5 症例) とともに 50% 生存期間は 2 か月であり, 「無治療」群 (9 症例) とほとんどかわりなかった。本疾患においても 5 症例に ERBD が施行されたが, 50% 生存期間は 2 か月であり, ERBD の効果を認めることができなかった。

4) 大腸癌: 肝転移を有する大腸癌 10 症例において, 「全」群 (2 症例), 「局」群 (4 群) の 50% 生存期間はそれぞれ 3 か月, 6 か月で, 「無治療」群の 1 か月に比べ生存期間の延長をみた。特に, 「局」群は危険率  $p < 0.05$  で, 「無治療」群より有意な生存期間の延長を観察した。

## 3. 考察

われわれの施設における肝転移を有する消化器癌における化学療法の現状は前述の通りであるが, この成績と比較する既報の成績がなく, 果たしてこの成績が妥当なものであるか明確ではない。しかしながら, 化学療法剤が全身投与から転移病巣局所に効率良く投与されるよう

になり, 生存期間の明らかな延長が胃癌や大腸癌で確認できた。

一方, 膵癌や胆道癌では化学療法の効果は全身投与法でも局所投与法でも確認することはできなかった。そして, むしろ膵癌では ERBD という対症療法を施行した症例で生存期間の延長を認めるという皮肉な結果を得た。そこで, このような癌症例では, より有効な制癌剤の開発が行なわれるまで, ERBD といった対症療法も患者の「quality of life」を考慮した医療という観点から無視できないものと考えられる。

## 3. 転移性肺腫瘍に対する化学療法: 内科の立場から

大 野 泰 亮

岡山大学医学部第二内科

転移性肺腫瘍とは, 肺以外の臓器ないしは組織に原発した悪性腫瘍が主として血行性に肺に転移し, そこに病巣を形成した病態をいう。古典的な Walther の血行性転移経路 (大静脈型, 肝静脈型, 門脈型, 肺静脈型) に従えば, 大静脈, 肝静脈へ還流する臓器の悪性腫瘍が肺転移をきたしやすいとされているが, 肺の機能, 循環動態と関連して, 実際には全身あらゆる部位からの転移が認められる。

以下内科の立場から, 転移性肺腫瘍の化学療法におけるいくつかの問題点と治療の基本的な考え方について述べた結果を要約する。

### 1. 診断について

手術後の症例も含めて, 確定診断のなされた悪性腫瘍の経過中に定型的な多発性結節性陰影を呈する場合その診断は容易であるが, 乳癌とか結腸癌の術後, 長期安定した状態にある患者に孤立性陰影が出現した場合には肺癌との鑑別が必要である。このような場合, 30~40% が肺癌であったとする報告もあり, 気管支内視鏡検査は必須である。逆に内科では, 転移性肺腫瘍が原発巣の診断に先だって発見されることも希ではない。このような症例では原発巣の検索が必須となるが, 腎癌とか甲状腺癌が発見されることが多い。また, 肺癌 (腺癌) の肺転移であることも少なくない。著しい呼吸困難と胸部 X 線上粒状・網状影を呈する場合には胃癌 (signet ring cell carcinoma), 肺癌, 乳癌などによる癌性リンパ管症に留意すべきである。

### 2. 治療上の問題点

肺転移病巣の分布が切除適応範囲を越えている場合, 原発巣に active な病変が残存する場合, あるいは肺以外に転移巣の存在する場合には内科的治療 (化学療法)

の適応となる。このような症例の宿主条件は切除療法の適応者に比べて極めて不利であり、また化学療法が奏効しにくい要因をいくつか有している。すなわち、広範な転移は高度悪性化 (tumor progression) そのものの現われであり、遺伝子の変化に伴っていくつかの不均一な腫瘍細胞集団が病巣を構成するようになり、原発巣とは異なる biological behavior を呈するからである。このことは臨床においても、増殖能、抗原性、ホルモンレセプター、薬剤感受性などの相違という形で捉えることができる。さらに、最近ではほとんどの腫瘍において術後化学療法が施されており、これを生きのびた腫瘍は当然のことながら薬剤耐性 (acquired drug-resistance) を示し、再発時化学療法の隘路となる。長期薬剤暴露による *mdr-1* 遺伝子の発現と多剤耐性の獲得という *in vitro* における現象は極めて興味深く、効果未確定の術後化学療法には慎重を期すべきであろう。

3. 転移性肺腫瘍に対する化学療法の基本的な考え方に述べた現象のみでなく、転移巣はその成立過程においてすでに selection を受けた細胞集団からなっており、原発巣とは異なる薬剤感受性を示す可能性がある。事実、ヒト腫瘍においても human tumor clonogenic assay により、肯定的な所見が認められている。しかし、現実には原発巣の治療として評価を得ている薬剤 (多剤併用療法) を第一選択とすべきである。*In vitro* 感受性試験の予言性は必ずしも高くないが、可能な症例には実施すべきであり、特に化学療法歴のあるものには有用と思われる。

薬剤感受性の極めて高い腫瘍 (精巣腫瘍、絨毛癌など) の肺転移には curative intent の化学療法を計画的に行なう。乳癌、卵巣癌、頭頸部扁平癌、骨肉腫も available best の多剤併用療法により完全寛解を含む 50% 以上の奏効率が得られており、また、化学療法の延命効果が明らかにされているので、積極的な治療を試みるべきである。その治療においては重篤な副作用、合併症がしばしば出現するので、medical oncologist との緊密な連携が必要である。胃癌、腎盂・膀胱癌、子宮頸癌などにおいても 30~50% の奏効率が得られてはいるが、その延命効果は明らかとはいえない。しかし、cisplatin などの導入により優れた効果が認められつつあるので、非観すべきではない。腺嚢胞癌 (唾液腺)、分化型甲状腺癌は肺によく転移するが、現時点では有効な化学療法はなく、増殖速度の緩やかなものは治療は行なわないで経過を観察するのが賢明である。

#### 4. 肺転移に対する治療：切除療法の立場から

安元 公正

九州大学医学部第二外科

##### 1. 目的

転移性肺腫瘍に対する外科療法は 1965 年に THOM-FORD らが治療成績と適応基準を示して以来、計画的治療の一環として定着してきた。一方では診断技術の進歩や化学療法の進歩によって、その適応基準にも変化が認められるようになってきている。今回はわれわれの治療成績をもとに、転移性肺腫瘍に対する切除療法の考え方をまとめることを目的とした。

##### 2. 対象患者

昭和 49 年 4 月から昭和 62 年 3 月までに当科で切除を行なった転移性肺腫瘍患者 60 例を対象とした。原発巣別にみると、癌腫 41 例では大腸癌 11 例、頭頸部癌 11 例、乳癌 5 例、肺癌 4 例、絨毛上皮癌 4 例、その他 6 例、肉腫 19 例中では骨肉腫が 8 例と最も多かった。これらの症例に対して、手術々式としては、肺部分切除 30 例、区域切除 5 例、肺葉切除 23 例、肺全摘除 2 例であった。

##### 3. 治療成績

60 例全例の 5 年生存率は 47.9% と満足のできる成績であった。癌腫では 49.5%、肉腫では 44.9% で有意の差は認められなかった。比較的症例数の多かった大腸癌、頭頸部癌、骨肉腫それぞれの 5 年生存率は 32.7%、41.3%、29.3% であった。転移巣切除後の治療成績を左右する因子として、原発巣の種類、転移巣の数、片側性か両側性か、転移巣の大きさ、原発巣の治療から転移出現までの潜伏期間、腫瘍倍加時間、所属リンパ節転移の有無、切除術式を想定して検討した結果、有意差が認められたのは腫瘍倍加時間のみであった。すなわち、腫瘍倍加時間が 40 日以下の者の 5 年生存率は 26.1% であったのに対して 40 日以上の場合には 44.2% であった。また大腸癌例について、原発巣のコントロールがについて肺転移を来し、切除を行なった症例 11 例と切除が行なわれず化学療法のみが施行された症例 7 例の比較を行なったところ、前者では 5 年生存率 32.7%、後者では 3 年以内に全例が死亡し、中間生存期間も前者で 31 か月、後者で 7 か月であった。比較的化学療法に対する感受性の高い絨毛上皮癌については、まず化学療法を行ない、残存した病巣に対する切除を行ない比較的良い結果を得ている。

##### 4. 考察

われわれは転移性肺腫瘍に対する手術適応基準とし



て、(1)手術侵襲に耐えられること、(2)原発巣がコントロールされていること、(3)肺以外の部位に転移がないことを取りあげてきたが、最近の化学療法の進歩によって治療成績が向上してきた絨毛上皮癌や骨肉腫では化学療法を先行させ、その無効病巣に対して切除を行っているので、4番目の基準として他に有効な治療法がない場合の一項を加えるべきと考えている。

## 5. 転移性肝癌に対する化学療法

新 本 稔

広島大学原医研外科

転移性肝癌に対する治療方針としては、手術可能な症例に対しては、できるだけ切除するようにしており、このような症例に対しては術前 angiography を施行した際に制癌剤 (MMC, ADM) とともに DSM や lipiodole を用いた塞栓動注療法を併用している。また、切除不能あるいは残存した肝転移巣には、局注あるいは動注を施行しているため、これについて述べるとともに、制癌剤感受性試験を施行しているため、この結果についても報告する。

### 1. OK-432 の腫瘍内大量療法

昭和 56 年 1 月からは胃癌切除例で肝転移のある症例に対しては、封筒法により大量 OK-432 の 100 K. E. を肝転移巣内に局注するかどうかの randomized controlled trial を行なっている。両群ともに術直後に MMC の (20+10) mg を投与したのち、長期間にわたり FT-207 の投与を行なっている。集積症例は大量 OK-432 投与群が 11 例、非大量投与群が 10 例で、平均生存期間は大量 OK-432 投与群が 8.7 か月、非大量投与群が 6.8 か月となっており、術中 OK-432 の大量投与を行なうことにより少しでも生存期間が長くなる傾向にあることがうかがわれる。

### 2. 転移性肝癌に対する化学療法

対象症例は、胃癌、大腸癌を主とする消化器癌、ならびに肺癌、乳癌などで、このうち初発例は 19 例、再発例は 22 例の計 41 例である。

治療のための制癌剤としては、MMC, ADM, 5-FU が使用され、肝動注、腫瘍内局注が併用されており、さらに肝切除に際しては出血量を少なくするとともに癌細胞に対して熱凝固を与えることにより壊死にいたらすように術中、microwave tissue coagulator (MTC) を用いての熱凝固、肝部分切除が行なわれている。なかでも多いのは、肝動注あるいはエコーガイド下による腫瘍内局注などである。治療法別の臨床効果を見ると、PR は 41 例中 9 例 (21.9%)、MR までをいれると 29.3% と

なる。このうち部分的にでも肝切除が施行できた症例では、5 例中 3 例 (60.0%) が PR となっており、reduction surgery について他の治療法を併用することの意義があるものと考えられる。

平均生存期間は、肝転移の初発例では 7.4 か月、再発例では 9.5 か月となっており、再発例の方が平均生存期間が長くなっており、また疾患別にみると、胃癌の方にやや平均生存期間が長くなる傾向がある。

### 3. 肝動注療法

肝腫瘍部分切除の後にも、腫瘍が残った場合には、肝動脈内挿管を行なっており、最近では皮下留置型リザーバーを使用して、これより制癌剤あるいは栓塞物質を反復し長期にわたり投与している。この目的にかなった栓塞物質としては、DSM (degradable starch microspheres) を併用しており、この利点としては阻害効果が一次的であり、embolization と異なり、何回でも main feeding artery から投与でき、また他の制癌剤との混和性も良好で、リザーバーを留置した症例では外来での投与も容易である。

### 4. 制癌剤感受性試験

制癌剤の選択には、開腹したさいに外科的に切除した新鮮材料より採取した組織で、制癌剤感受性試験を行ない、最も有効性の期待できる薬剤を動注するようにしている。

同時性肝転移症例 5 例と、異時性肝転移症例 5 例は、それぞれ大腸癌 2 例、胃癌 3 例ずつであり、これらについて原発巣と肝転移巣との制癌剤感受性の相違を検討している。

同時性および異時性肝転移症例ともに、原発巣における感受性は低くなっているが、同時性肝転移症例においては、肝転移巣の感受性陽性率が高くでており、腫瘍の heterogeneity が認められ、肝動注などによる積極的な制癌剤化学療法が期待できる。その際の肝転移巣に対する制癌剤としては ADM, CDDP の response rate が高い傾向にある。

異時性の転移性肝癌症例においては、原発巣、転移巣ともに制癌剤感受性は低かったが、肝転移に対しては、ADM, CDDP の response rate が高くでる傾向にある。

制癌剤感受性試験の結果と臨床効果との相関をみると、臨床効果が PR で感受性が陽性であったものが 2 例、PD で感受性が陰性のものが 3 例となっており、相関率は 10 例中 5 例 (50%) となっている。

以上より、肝転移症例でも制癌剤感受性試験のための転移巣を採取した後に、皮下留置式のリザーバーを植え込み、そこから感受性陽性薬剤を動注することにより予

後に良好な結果を導くものと考えられる。

## 6. 卵巣悪性腫瘍の肺・肝転移に対する化学療法

薬師寺道明

久留米大学医学部産婦人科学教室

女性性器悪性腫瘍のうち、子宮癌の発生頻度が最も高いことは周知のごとくであるが、最近における早期診断法の進歩により著しく死亡率が改善されてきた。この子宮癌の統計的変遷に代わって注目されてきたのが卵巣癌で、既に米国では子宮癌よりも高い死亡率が報告されている。このような傾向は我が国でも例外でなく、数年内には米国と同じような変遷を迎えることは疑いない。

では何故このように死亡率が高いのであろうか？ 端的にいうと、進行癌の占める頻度が高いことにつきる。すなわち、卵巣癌は silent disease と称されるように初期症状に極めて乏しい。また、卵巣の解剖学的位置や発生する腫瘍の多種多様性、あるいは幅広い年代層にわたり腫瘍が発生するなど、早期発見法の開発や検診の対策に悪条件を与えている。したがって、我々臨床医が治療を行なう患者の約 80% は進行癌で占められているのが現状である。反面、この事実、いかに臨床医が進行癌の取り扱いに苦慮しているかということをお話している。

一方、最近における卵巣癌の治療は、手術療法とともに、化学療法が主役の役割を占めつつある。とくに最近では cisplatin をはじめとする化学療法剤の出現により、従来では全く手の施しようもなかった進行癌の症例でも希望が持たれるようになってきた。

上皮性癌に対する化学療法の regimen で有効と思われ、広く臨床に応用されているものに cyclophosphamide, adriamycin, cisplatin (CAP) の併用療法がある。日本婦人科悪性腫瘍化学療法研究会でまとめた資料によると、初回治療群では 63% の奏効率を得ている。胚細胞性腫瘍に対しては cisplatin, vinblastine, bleomycin (PVB) の併用療法が 70% の奏効率を示し、また最近開発された podophylotoxin 誘導体の etoposide, あるいは同剤と cisplatin との併用療法に期待がかけられている。以上、卵巣悪性腫瘍のうち最も発現頻度が高い上皮性癌と胚細胞性腫瘍の化学療法は、前者では CAP 療法が、後者では PVB 療法が主体に行なわれている現状である。

卵巣悪性腫瘍は発見時すでに進行癌が多いことは前述したごとくで、この事実は肺・肝へも当然転移を来すことが考えられる。しかし、卵巣悪性腫瘍の進展様式は、

腹腔を介する経路（播種性転移）が主体となるため、臨床上の経過で促えられる肺転移は比較的少ない。我々は過去 25 年間に 595 例の原発性卵巣癌を経験しているが、IV 期と診断した 88 例のうち初回治療時に肺転移を認めたものは 7 例にすぎず、肝転移が 56 例であった。したがって、本講演では、肝転移に対する化学療法を主体に述べることにした。

初回治療時に肝転移を認めたもののうち、上皮性癌が 56 例中 52 例を占めていたため、評価対象を上皮性癌について行なった。肝転移を認めた症例に対しては、初回手術時に肝の部分切除などの外科的処置は行なわなかった。その理由は、ほとんどの症例は腹腔内に腫瘍が進展した状態にあり、肝の部分切除のみの局所操作は適応外と考えたからである。

化学療法の regimen を大別し、延命効果を検討した。すなわち、cisplatin の登場以前に用いていたアルキル化剤を主体とした regimen と、cisplatin を基剤とした併用療法（主として CAP 療法）の比較である。前者は 32 例（A 群）、後者は 20 例（B 群）に使用されていた。3 年生存率は A 群では 0%、B 群では 23% で、両者間に有意の差を認めた。

IV 期以外の症例で、経過中に肝転移が確認された 38 例についても化学療法の regimen 別に検討したが、1 例を除き全例 3 年以内に死亡し、cisplatin の併用療法も効果を認めることができなかった。これらの症例は、初回手術後に化学療法を受けており、second-line chemotherapy の困難さが痛感させられた。また、肝転移が単発で発見される例はなく、全例腹腔内に再発あるいは再燃を伴った病態を呈していた。このことは肝転移巢の外科的切除の適応外となるし、卵巣癌の特有の病態像を示していると思われる。

以上のように、進行癌に対する化学療法の展望は明るいとはいえない。しかし、最近では進行癌に対する reduction surgery や更に広汎な外科的手術が化学療法の効果を高めることが認められつつある。我々もこのような手段を用いて検討をすすめているが、III 期症例を対象とした成績では良好な結果を得ている。したがって、肺・肝転移例に対しては、いかにタイミングよく手術の時期を決定するかが今後の課題ともいえよう。

## 7. 膀胱癌の肺転移

松村陽右

岡山大学医学部泌尿器科

浸潤性膀胱癌は、治療開始時にすでに約 10% は遠隔転移を有している。その治療は、明確に計画された治療

方針に従って、的確に行なわれなければならない。近年、術前化学療法、手術療法、術後の化学療法・放射線療法によって生存期間の延長、quality of life の向上が期待されつつある。しかし、これらの治療にもかかわらず約 10% の局所再発、約 10% の遠隔転移が生ずるとされている。最近 9 年間の日本病理剖検輯報よりの検索によると、膀胱癌の診断のあるものは 2,560 件ある。男 1,875 (73%)、女 685 (27%)、平均年齢は 69 歳である。組織学的には移行上皮癌 86%、扁平上皮癌 9%、腺癌 3% であり、転移のあるもの 1,898 (74%)、ないもの 662 (26%) である。転移部位と浸潤部位では、リンパ節が 1,260 件 (67%) と最も多く、以下肺 (58%)、肝 (53%)、骨 (29%) の順である。記載されている直接死因は、肺炎、膀胱癌、腹膜炎、肺水腫、腎盂腎炎が上位 5 位となっている。肺炎、肺水腫が直接死因となっているのは、高齢のためと思われる。ブレオ肺炎も 7 例報告されていた。

膀胱癌に有効な化学療法剤は、adriamycin (有効率 23%)、cisplatin (30%)、cyclophosphamide (31%)、5-FU (16%)、methotrexate (35%)、mitomycin C (20%)、vinblastine (16%) などである。多剤併用化学療法としては、これらの薬剤を組み合わせた CAP-type (cyclophosphamide 250~650 mg/m<sup>2</sup>、adriamycin 40~60 mg/m<sup>2</sup>、cisplatin 40~100 mg/m<sup>2</sup>) と M-VAC 療法 (methotrexate 300 mg/m<sup>2</sup>、vinblastine 3 mg/m<sup>2</sup>、cisplatin 70 mg/m<sup>2</sup>、adriamycin 15~30 mg/m<sup>2</sup>) が代表的なものである。CAP-type の有効率は約 40%、M-VAC 療法は約 70% の有効率が報告されている。我々の経験した CAP-type (CIA 療法 cisplatin 50~70 mg/m<sup>2</sup>、ifosfamide 1.5 g/m<sup>2</sup>、adriamycin 30 mg/m<sup>2</sup>) 検討では有効率 30% (既往に化学療法のあるもの 20%、ないもの 40%) であった。転移巣に対する化学療法の効果については、多くの報告が 30~50% の比較的良好な成績を示しているが、肝、骨には不良である。転移巣に対する M-VAC 療法の奏効率は、STERNBERG の報告によれば、肺、リンパ節、肝、骨のいずれにおいても原発巣である膀胱と同様に良好な成績を示している。しかし、我々の経験した CIA 療法を含め、奏効期間が短く生存期間の延長に連ならないのが問題である。また、化学療法が既往に行なわれている場合は、有効率が明らかに不良であり、計画的な治療の必要性を示唆している。

今後の問題点として、さらに有効な化学療法の開発が望まれる。転移巣が局限している場合には放射線療法あるいは肺葉切除などが併用されなければならないが、膀胱癌患者は高齢者が多く、強力な化学療法や手術的摘除が困難な面がある。このため、生存率の向上のために

は、有効な化学療法の開発のみならず、維持療法の開発も必要である。

## 8. 睾丸腫瘍の肺転移巣に対する化学療法

古武 敏彦・三木 恒治

大阪府立成人病センター泌尿器科

睾丸腫瘍の治療においては、原発巣に対しては摘出が容易であり問題はなく、転移巣に対する治療が中心となる。従来、転移巣に対しては放射線療法と手術療法が行なわれていたが、進行癌特に肺転移巣を有するものの子後は極めて不良であった。しかし、近年の化学療法の発達、殊にシスプラチン (CDDP) の導入によりその治療成績は飛躍的に向上し、完全治癒を望みうる悪性腫瘍の一つになりつつある。今回は、自験 52 例の進行癌に対する PVB 療法 (cisplatin+vinblastine+bleomycin) の治療成績を解析検討し、肺転移巣に対する治療の現況と問題点について述べた。

進行癌症例の概略は、年齢が 17~51 歳 (平均 31.6 歳)、組織型 (Dixon-Moore 分類) は I 型 (セミノーマ) 8、II 型 (胎児性癌) 22、N 型 (奇形癌) 14、V 型 (絨毛癌) 8 例で、病期は stage II 21、肺転移を含む stage III が 31 例であった。転移部位では、後腹膜リンパ節が 37 例 (71%) と最も多く、肺転移は 25 例 (48%) で、複合転移例は 18 例 (35%) であった。肺転移の状態は、肺単独例が 13 例と複合転移が 12 例で、その中小病巣 (5 cm 以下あるいは 5 コ以下) が 4 例、大病巣が 21 例であった。肺転移巣を有する 25 例の原発巣の組織型は、胎児性癌が 50%、絨毛癌 20%、セミノーマ 17.5%、奇形癌 12.5% であった。転移を有する進行癌には腫瘍睾丸の摘出後、全例 PVB 療法を行なった。投与方法は、VBL 10 mg と BLM 30 mg を 1 日目に iv、CDDP 20 mg/m<sup>2</sup> を 1~5 日目まで利尿下に点滴静注するもので、これを 3~4 回行なった。

PVB 療法の治療成績は、52 例中 CR が 28 例 (53.8%)、PR が 20 例 (38.5%)、MR が 4 例 (7.7%) であった。組織型では、胎児性癌が 68.2%、セミノーマが 62.5% と高い CR 率を示したが、奇形癌と絨毛癌では 35.7%、37.5% と低く組織型による化学療法に対する感受性の差がみられた。病期別の CR 率は、stage II が 76.2%、stage III は 41.9% と低下していた。肺転移巣に対する効果は、肺のみの小病巣では 100% の CR 率を示したが、大病巣 11.1%、複合転移で 33% と低く PVB 療法のみで治療することは困難であった。後腹膜転移巣では、小病巣では 100%、大病巣でも 50% の CR 率を示し、肺病巣より治療効果が大きかった。PVB

の効果は転移腫瘍の大きさとの関連性が大で、小病巣では100%の治癒率であるが、大病巣では34.4%と低い。

PVB療法の成績は、腫瘍の病期、組織型、転移部位、大きさなどにより差がみられた。これら難治性に対する治療が重要な課題であり、腫瘍の性質をふまえた的確な salvage therapy が必要となる。これには、手術療法、二次化学療法、放射線療法があるが、手術療法が最も有力である。不完全奏効例 24 例と CR よりの再発 4 例の計 28 例に salvage therapy が行なわれ、11 例で CR を得、最終的に 52 例中 35 例 (67.3%) が完治された。生存率でみると 90 か月で、CR 群が 92.4%、PR 群、MR 群でも 36.1%、25.0% を得た。この成績は諸家の報告とはほぼ同程度のものであった。

肺転移巣に関しては、大病巣あるいは多発病巣を示すものが多く手術適応症例が少なくより難治性である。PVB 不完全奏効 16 例中、9 例に二次化学療法、4 例に

PVB の追加療法が行なわれ、このうち 6 例は手術および放射線療法を併用した集学的治療が行なわれた。二次化学療法のレジメンは、teriposide (500 mg/m<sup>2</sup> VM-26) あるいは etoposide (100 mg/m<sup>2</sup> VP-16) と CDDP (20 mg/m<sup>2</sup> × 5) の併用である。この集学的治療成績は、16 例中 7 例、44% の完全治癒率を得た。肺転移巣に対する二次化学療法後の手術療法は極めて有効であるが、放射線療法も限局的照射が有用であった。

睾丸腫瘍の肺転移巣を有する 25 例にまず PVB 療法を行ない 9 例 (36%) が CR となり、残る 16 例に対し、CDDP と VM-26 あるいは VP-16 の併用二次化学療法を中心とする集学的治療を行ない、7 例 (44%) を救済し、肺転移巣の総合的治癒率は 64% であった。進行性睾丸腫瘍の治療においては、あくまで完全治癒をめざしての積極的な集学的治療を行なうことの重要性を強調した。

## シンポジウム (II)

## 感染成立をめぐる諸問題

## 司会のことば

松本 慶蔵

長崎大学熱帯医学研究所内科

熊澤 浄、一

九州大学医学部泌尿器科

感染成立の諸要因に関する研究は、感染症の立場からも化学療法の間場からも極めて重要であり、多くの研究者の重大な関心事となっている。

感染が成立する要因はもちろん一定ではなく、幾つかの要因が重なって生ずることは臨床の間にある私共にはよく感じられる事実である。ただし大まかにいえば、宿主の全身的要因、例えば免疫不全や局所の防御能の低下、例えばびまん性汎細気管支炎における気管支や細気管支における病変の2つに分けることが可能である。しかしこの2分類のみに整理することは今日の医学の進歩からみて充分ではなく、その他の詳細な研究が全世界的に進められている。本シンポジウムにおいては6名の演者により、その着想の良さと実験方法の進歩により、今日の本邦のレベルをそのまま示すといつてよい成績が報告された。

西野はアロキサン実験的糖尿病マウスを場に、糖尿病における易感染性を解析した。糖尿病マウスの白血球の走化性の低下とマクロファージの貪食殺菌能と走化能の低下を確認し、特に糖尿病中のGNBの増殖促進効果は興味深い。更にインシュリンによるこれらの機能改善が示され、各種抗菌性物質の効果の差が報告された。この結果は化学療法の上で新知見と思われる。

次の花牟礼、力富、加藤の研究は中耳、上気道、下気道における各々重要な病原菌を選択し、細菌性付着能を主要検討した成績である。今日副鼻腔、咽頭、下気道の関係は感染成立をめぐる問題として極めて関心が高い分野である。花牟礼は中耳粘膜炎中織毛細胞部位にインフルエンザ菌 (nontypable) が扁平上皮細胞部位に付着し易いこと、織毛細胞部位では杯細胞部によく付着することを示した。この定着はリゾチームにより抑制されるが、6種類の単糖はその付着に影響を与えないことも示した。力富はブランハメラ・カタラーリス呼吸器感染症急増の原因を究明するため、患者群での口腔内細胞への付着性亢進を示し、かつブランハメラ呼吸器感染症の季節的変動を付着性の変動と一致すること、更にコリネバクテリウムがブランハメラと付着性競合する事実を示し

た。ブランハメラの付着性に影響すると考えられる唾液糖成分の季節的変動と粘膜炎細胞へのトリプシン処理効果を示した。またβ-ラクターマーゼ産生は付着性の亢進に関係があるという。加藤はグラム陰性桿菌3菌を選び、高齢者では頬細胞に高率に付着する事実を示し、更にラット気管粘膜炎に0.1N HClで障害して3菌の付着能を比較し特に緑膿菌が付着し易く、障害部位に特に付着することを報告した。この障害は圧迫でも生ずるといふ。また尿路系と異なる点は細菌のもつ pili のみがその付着能を決定する要因ではないことを述べたことである。またムチン中のN-acetylneuraminic acidが緑膿菌付着を抑制することを示した点、1/2 MICは付着に影響しない点なども注目される。

松本は腎盂腎炎の発症要因として、本症の好発かつ初回感染部位である腎髄質を中心に検討した成績を報告した。その場で生ずる高浸透圧下での防御能の低下特に白血球の機能を検討した実験着眼はまことに興味深い。この場でNaCl、尿素濃度は白血球能に大きな影響を与えた。すなわち、高食塩、高尿素濃度は貪食能の低下をもたらした。更に活性白血球、温度差で種々検討し、白血球の貪食・殺菌能、SO<sub>2</sub>産生抑制程度を報告した。後藤は大腸菌の pili のもつ接着能と尿路感染症の関係を *in vitro*, *in vivo* の両面より検討し、pili 保有株が接着能が高く、前立腺炎由来株が更に高い点は臨床的にも興味深い。家兎尿管、マウス膀胱内に大腸菌を注入すると pili 保有株の方が腎盂腎炎を発症しやすいが、尿管を15分以上閉塞すると pili 非保有株でも腎内細菌数は増加しており、ホストの変化が細菌の接着性の違いをもたらす可能性を示唆しており、今後の研究課題と考えられる。

## 1. 実験的糖尿病マウスにおける感染症モデルの作製について

西野 武志

京都薬科大学・微生物

糖尿病患者に種々の感染症が合併しやすいことは古くからよく知られており、特に肺、皮膚あるいは尿路感染症などで重篤化することがある。しかしながら糖尿病と感染症の関連性についてはいまだ論議されるべき問題や不明な点が多い。アロキサンやストレプトソトシンなどの投与により作製した実験的糖尿病動物に対する種々の感染、発症に関して多くの研究報告があるが、これらのほとんどは *Candida*, pneumococci あるいは streptococci などをを用いた実験であり、現在臨床上問題となっている opportunistic pathogen, 特にグラム陰性菌を用

いた検討は少ない。

そこで今回私どもは、フロキササン投与により実験的糖尿病マウスを作製し、各種グラム陰性桿菌の感染性について検討し、その易感染化メカニズムの解析、抗菌剤による治療実験などを行なったので報告する。

#### 1. 糖尿病マウスの作製

一夜絶食させたマウスの腹腔内にフロキササン 250 mg/kg を接種することにより糖尿病マウスを作製した。血糖値、尿糖量、摂水量、体重変化などから明らかに糖尿病態にあることが確認でき、少なくとも2週間以上持続した。

#### 2. 糖尿病態マウスでの易感染化

*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* を用いた腹腔内感染症において、糖尿病マウスは正常マウスとほぼ同様の感染状態にあり、顕著な糖尿病マウスの易感染化は認められなかった。経鼻接種による肺炎では *K. pneumoniae* を用いた場合、糖尿病マウスの易感染化が認められ、正常マウスに比べ、10~100 以上の LD<sub>50</sub> 値の低下が認められた。*P. aeruginosa* の場合、致死時間の短縮など糖尿病マウスの易感染化傾向が認められたが顕著なものではなかった。経尿道接種による膀胱炎では、供試6菌種すべてにおいて糖尿病マウスの易感染化が認められ、種々の接種菌量において、膀胱から多数の菌が回収された。

#### 3. 易感染化メカニズムの解析

糖尿病マウスにおける易感染化メカニズムの解析として急性感染症で重要な役割を担う白血球およびマクロファージの機能を中心に、また感染局所における防禦反応についても検討を行なった。全身レベルでは糖尿病マウスの末梢白血球数や白血球の貪食能など正常マウスとほとんど差異が認められなかった。しかし白血球の走化能が糖尿病マウスでは正常マウスに比べ若干劣っていることが、*in vitro* および *in vivo* の検討から分った。またマクロファージについては、貪食殺菌能および走化能が糖尿病マウスでは正常マウスに比べ低下していることが認められた。さらに感染局所における防禦反応では、*K. pneumoniae* による呼吸器感染時に遊出する肺内白血球数が糖尿病マウスでは正常マウスに比べ少ないことが分った。しかしながら肺胞マクロファージ数は両マウス群で差が認められなかった。また気道に付着する細胞数も両マウス群でほとんど差がなかった。尿路感染症における易感染化メカニズムの解析として、*S. marcescens* および *E. cloacae* を用いて検討した。膀胱炎発症に係る重要なステップの一つである膀胱上皮細胞への付着性を *in vitro* で検討したところ、両菌種とも糖尿病マウスの上皮細胞には正常マウスに比べ約2倍多くの菌が付着す

ることが分った。

次に尿中での増殖性を検討したところ、糖尿中では両菌種とも非常に良好な増殖が認められた。一方正常マウス尿中では増殖は抑制される傾向にあった。これは両マウス群の尿中尿素窒素含量に相関し、尿素窒素含量の低い糖尿中では尿中抗菌力が低下することが一因であろうと考えられた。また感染時、膀胱尿中への白血球の遊出が糖尿病マウスでは正常マウスよりも低いことが分った。このように各感染系における易感染化メカニズムは複雑であり、非特異的貪食細胞機能の低下および組織や体液成分の変化などが相互的に働き易感染化に導かれるものと考えられた。さらに易感染化におよぼすインシュリンの影響について検討を行なった。血糖値はインシュリン投与により一過性に低下するが根本的な低血糖状態にはならなかった。しかしながら摂水量、体重変化、毛並みなどの面では明らかな改善が認められた。インシュリン投与により低下していた白血球やマクロファージの走化能が回復し、また尿中尿素窒素含量の増加により、感染抵抗性が上昇した。このように糖尿病態のコントロールも感染抵抗性には重要であることが分った。

#### 4. 各種抗菌剤の治療効果

糖尿病マウスの感染症に対する抗菌剤の治療効果を正常マウスの場合と比較した。*K. pneumoniae* による肺感染症に対して、cefmenoxime の治療効果は糖尿病マウスでは非常に低く難治性であることが分った。また ofloxacin, ciprofloxacin, NY-198 のキノロン系抗菌剤も糖尿病マウスでは若干効果が正常マウスより劣ることが分った。しかしながら gentamicin の場合、両マウス群での治療効果の差はほとんど認められず、いずれも良好な効果であった。このような現象は感染菌に対する各抗菌剤の抗菌力や体内動態の差から生じるものと思われた。また *S. marcescens* による腎盂腎炎に対するキノロン系抗菌剤の治療効果は両マウス群でほとんど差は認められなかった。さらに cefmenoxime の治療効果に及ぼすインシュリンの影響について検討したところ、肺感染症において若干治療効果が良好となることが分り、インシュリン投与は治療効果発現に良い影響を及ぼすものと推察された。

以上のように糖尿病は感染症の発症を容易にすることが分った。これは生体防禦機能の低下のみならず感染菌の生体組織への付着、尿、体液中での増殖など生体にとって不利な条件を提供しているものと考えられた。また糖尿病態での感染に対する薬物治療は困難となることが予想され、適切な薬物の選択や投薬方法が要求されるものと思われる。

## 2. 気道系に対する細菌付着性の検討

加藤 政 仁

名古屋市立大学医学部第一内科

Bacterial adherence は細菌感染症成立の第一歩である。私はヒト頬細胞およびラット気管粘膜に対するグラム陰性桿菌の付着能について種々検討した。

### 1. ヒト頬細胞における検討

方法：頬細胞は頬粘膜を綿棒で擦過し採取，PBS で洗浄後  $10^6$  cells/ml に調整。細菌は，呼吸器由来の *E. coli*，*K. pneumoniae*，*P. aeruginosa* であり，それぞれ trypto soy broth で一夜培養後，PBS で洗浄し  $10^6$  cells/ml に調整。頬細胞浮遊液 1 ml と菌液 1 ml とを混和し，37°C，2時間 shaking water bath にて培養後，遠沈法により非付着細胞を除去し，頬細胞をスライドガラス上に塗抹，グラム染色し，1,000 倍で鏡検した。25 個の頬細胞から 1 細胞当りの平均付着グラム陰性桿菌数を算出した。対象は平均 35.9 歳の健康成人 18 人，慢性気管支炎などの慢性肺疾患患者 24 人，肺癌患者 17 人，70 歳以上で全身状態良好な健康老人 14 人，脳血管障害のための寝たきり老人 18 人の計 5 群である。

成績：付着実験前すでに頬細胞に付着しているグラム陰性桿菌数は，寝たきり老人では 1 頬細胞当りに  $7.4 \pm 5.9$  cells であり，健康成人  $0.3 \pm 0.3$  cells，健康老人  $0.6 \pm 1.1$  cells に比べて高値であった。付着実験の成績では *E. coli*，*K. pneumoniae*，*P. aeruginosa* の 3 菌種とも寝たきり老人群は他群に比べて高い付着能を示した。高齢者は喉頭機能が低下しているため口腔内容物は下気道に達し易いことから，全身状態不良の寝たきり老人の肺炎の原因菌にグラム陰性桿菌が多い理由のひとつに口腔内頬細胞に対するグラム陰性桿菌の付着能の亢進が考えられた。

### 2. ラット気管粘膜における検討

方法：ラット気管粘膜に 0.1 N HCl を 7～8 分間接触させ摘出後 2 分割し，PBS で洗浄し傷害粘膜を作製。細菌は trypto soy broth で培養後 PBS で洗浄し菌量を調整。菌液 2 ml に気管を浸し，37°C，1 時間培養し，その後気管を PBS で洗浄し非付着菌を洗い流した。気管をグルタルとオスミウムにより二重固定し，ゴールドパラジウムでコーティングし，走査型電顕により 5,000 倍で 25 視野観察，1 視野当りの平均付着菌数を算出した。

成績：傷害粘膜は繊毛の短小化，癒合，脱落，無繊毛細胞の膨隆化，細胞間の離開などが観察された。傷害粘膜に対する付着能は *P. aeruginosa* 1210 は  $11.1 \pm 4.0$  cells/1 視野，*E. coli* NIHJ-JC2 は  $1.9 \pm 1.0$  cells/1 視

野，*K. pneumoniae* NK-31 は  $1.3 \pm 0.7$  cells/1 視野であり，一方，正常粘膜には 3 菌種ともほとんど付着しなかった。バルーンによる圧迫傷害粘膜および手術材料から得られたヒト気管支粘膜においても同様の結果が得られ opportunistic adherence という概念が成立した。

臨床分離株について検討すると，*E. coli* はいずれも呼吸器系由来株であるが付着菌数はわずかであった。*K. pneumoniae* では呼吸器系由来株は尿路系由来株よりも若干高い付着能を示した。しかし両菌種とも赤血球凝集能と付着能とに相関は認められなかった。Pili を持つ細菌は動物の赤血球を凝集する性質があることから，この成績は細菌付着は pili だけで決定されるのではないことを示していると考えた。また *P. aeruginosa* も呼吸器系由来株は尿路系由来株よりも若干高い付着能を示した。呼吸器系由来株のみで検討すると，*P. aeruginosa* は  $9.0 \pm 3.5$  cells/1 視野 ( $2 \times 10^7$ /ml 接種)，*E. coli* は  $0.4 \pm 0.4$  cells/1 視野 ( $10^9$ /ml 接種)，*K. pneumoniae* は  $3.3 \pm 1.8$  cells/1 視野 ( $10^9$ /ml 接種) であり，細菌の tissue tropism が明らかとなった。

*S. aureus*-209 P 株の気管粘膜に対する前処置は *P. aeruginosa*，*E. coli*，*K. pneumoniae* の付着能に影響を与えず，付着部位が *S. aureus* とこれらの 3 菌種で異なると考えられた。

気管粘液およびムチンで細菌を前処置すると *P. aeruginosa* の付着が著明に抑制された。ムチンの糖タンパクの構成成分である各種の糖類の検討では，N-acetylneuraminic acid の前処置が *P. aeruginosa* の付着を著明に抑制した。N-acetyl-D-galactosamine は付着を 1/2 程度に抑制したが，その他の N-acetyl glucosamine，L-fucose，D-mannose，D-galactose では付着を抑制しなかった。また気管粘膜を過ヨウ素酸ナトリウムで前処置すると *P. aeruginosa* の付着能は著明に抑制された。これらの結果よりムチン上および粘膜上の N-acetylneuraminic acid が *P. aeruginosa* のレセプターとして働いていると考えられた。

1/2 MIC の抗生剤の影響について検討した。*E. coli* NIHJ-JC2 に対し ABPC と GM を，*P. aeruginosa* 1210 に対し PIPC と GM をそれぞれ 1 時間接触させて後に付着実験を行なった。しかし両菌種とも使用した抗生剤の影響はみられなかった。抗生剤の前処置により菌はダメージを受け当然付着が抑制されると考えられるが，今回の検討ではそれがみられなかった。抗生剤を作用させる時期が菌の成長期か休止期かの問題，抗生剤の作用機序や菌との接触時間など種々の因子が関係しているので，今回の実験条件では抗生剤の影響はなかったとしかいえないと考えた。

考案：頬細胞への細菌付着は下気道感染症および肺炎発症の準備状態と考えることができ、下気道への細菌付着は下気道感染症発症の第一歩であると同時にそれより末梢の感染症である肺炎発症の準備状態と考えることができる。しかし付着態度は両者間で差があると考えられている。Ramphal は下気道に付着し易い mucoid type の *P. aeruginosa* が頬細胞に対する付着は poor であったと述べ、また Niederman は細菌付着能に及ぼす pH の影響は buccal cell と trachea cell では異なると述べている。すなわち頬細胞に対する細菌付着は下気道で起きている細菌付着を説明できないと考えられ別々に検討することが重要と思われる。

### 3. ブランハメラ・カタラーリスの咽頭上皮細胞への付着と下気道感染症発症の関係について

力 富 直 人

長崎大学熱帯医学研究所内科

#### 1. 目的

細菌が宿主に対し病原性を発揮する場合、まず宿主の標的細胞へ付着する必要があると思われる。しかし一方、宿主側からみればこの付着という現象は細菌を付着した場所へ止めるという防禦的側面を持つ可能性も考えられる。下気道感染症において病原細菌の咽頭粘膜への付着を論じる場合問題は更に複雑である。腸管粘膜への病原菌の付着は標的臓器に直接関係しているが、呼吸器病菌の咽頭上皮細胞への付着はそれ自体病原菌にとって下気道への足場ともなるし、また逆に宿主側の関門であり、脱落上皮細胞へ付着した病原菌はやがて嚥下、消化という過程で殺菌されるかもしれないからである。

今回は、近年特に注目されているブランハメラ・カタラーリス（以後ブランハメラ）について、その病原性発揮にかかわる付着の役割に焦点をおき研究を行なった。

#### 2. 方法

##### A. 患者の季節発生と *in vitro* 付着率

1) 1984年1月から1986年2月まで長崎大学熱帯医学研究所内科におけるブランハメラ呼吸器感染症の月別の発生件数を調査した。1985年1年間にわたり慢性呼吸器疾患を有する患者群（男33、女15：平均年齢62歳）に対し計91回、咽頭上皮細胞とブランハメラの *in vitro* 付着実験を行なった。患者群の内訳は、慢性気管支炎（20）、慢性肺気腫（10）、気管支拡張症（8）、気管支喘息（6）、肺癌（4）である。また、このとき同時に咽頭培養を施行した。

次に1985年の12月に呼吸器疾患を有さないコント

ロール群（年齢をマッチングさせた）9名を選び *in vitro* 付着実験を行なった。

2) ブランハメラの *in vitro* 付着率は以下の方法で行なった。咽頭粘膜を綿棒で軽くこすりこれをPBS中に浮遊させ、非付着菌を遠心により除き  $10^8/ml$  の上皮細胞浮遊液をつくる。Broth 中で一晚培養したブランハメラを遠心により洗浄し  $10^7/ml$  濃度のPBS浮遊液をつくる。この両者を  $37^\circ C$  で30分間 incubation しその後非付着菌を遠心により除去し、最終的には上皮細胞をスライドグラス上に塗抹しグラム染色を行なった。一方菌液を加えない上皮細胞浮遊液をコントロールとして用いた。付着率は、(50個の上皮細胞上のグラム陰性双球菌) ÷ 50として計算した。

##### B. 咽頭常在細菌叢とブランハメラの interaction について

咽頭常在細菌叢の一種であるコリネバクテリウムとブランハメラを患者咽頭上皮細胞に競合的に付着せしめることにより、両菌の上皮細胞への親和性を比較した。(a) 上皮細胞 ( $10^7/ml$ ) とコリネバクテリウム ( $10^8/ml$ ) を先に incubation した後ブランハメラを加える実験と、(b) ブランハメラ ( $10^7/ml$ ) とコリネバクテリウム ( $10^7/ml$ ) を同時に上皮細胞に付着せしめる実験を行なった。非付着を遠心で除いた後グラム染色を行ない両菌を数えた。計算方法は前述した方法と同様である。

##### C. 口腔内液性成分の季節的変動に関する研究

慢性呼吸器疾患患者群と対象群について、夏と冬における唾液中の pH, IgG, S-IgA, リゾチム, アルブミンなどを測定し、ブランハメラ付着率の季節変動に影響を及ぼすファクターにつき検討を行なった。

##### D. 上皮細胞上のレセプター物質の検討

患者咽頭上皮細胞 (n=4) と対象群上皮細胞 (n=5) を 0.01% トリプシンで処理した後、ブランハメラを付着させたときの付着率と未処理のものに付着させたときの付着率を比較し、電顕による観察も同時に行なった。本実験ではフィルターにより非付着菌を除く方法を追加した。

##### E. $\beta$ -ラクタメース産生能と付着率の検討

2株の  $\beta$ -ラクタメース産生ブランハメラと1株の  $\beta$ -ラクタメース非産生菌を患者咽頭上皮細胞 (n=8) に同時に付着させその付着率を比較した。

#### 3. 結果

1) ブランハメラ呼吸器感染症は冬多発し夏に減少する。これを患者群における付着率の季節変動という立場からみると、明らかに患者発生と一致した付着率の増減がみられた。一方コントロール群は冬においても付着率



は低値であった。

2) コリネバクテリウムは夏季に多く患者咽頭より分離された。そして *in vitro* の付着実験ではブランハメラの付着を競合的に抑制した。すなわち夏季におけるブランハメラ感染症の減少の一因ではないかと思われた。

3) 唾液中の pH は患者群 (n=39) においては夏の平均 6.6 に対し冬は平均 7.22 と有意差をもって冬が高かった。一方、対象群 (n=31) では冬は高い傾向がみられるものの、統計学的には有意ではなかった。その他唾液中の IgG, S-IgA は患者群、コントロール群とも両季節間の差はみられずむしろ IgG, S-IgA は年齢に dependent に増加した。またアルブミン、リゾチームに関してはバラツキが大きく、比較が困難であった。

4) トリプシン処理を上皮細胞に行なうと対象群では明らかに付着率が増加し患者群においてもその傾向が強かった。電顕による観察では細胞表面の構造の乱れた場所に菌が多数付着する様子が見られた。

5)  $\beta$ -ラクタメース産生の 2 株は明らかに非産生 1 株より付着率が高かった。

#### 4. 結論および考察

ブランハメラ感染症の季節変動は患者咽頭上皮細胞への付着率が重要な因子である。付着率の季節変動に影響する因子として口腔内常在細菌叢の一つでコリネバクテリウムの影響が大きく、コリネバクテリウムはブランハメラの上皮細胞への付着と競合して上気道におけるブランハメラの定着を抑制すると思われた。また患者群において唾液 pH は季節的に変動が認められ付着への影響が示唆された。トリプシンによる上皮細胞の処理により付着率が上昇することより、上皮細胞上の蛋白成分がブランハメラの付着に抑制的に働いている可能性が推察され、今後レセプター物質の検討が必要と思われる。

#### 4. インフルエンザ菌の中耳粘膜への定着性について

花 牟 礼 豊

鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科

細菌感染症の成立に当たっては、まず細菌の生体組織への定着が必要であり、細菌側の定着因子 (adhesion) と組織細胞側のレセプターとの特異的な結合によって、定着が成立することが、近年報告されている。今回我々は、急性中耳炎の起原菌として、また滲出性中耳炎の病態にかかわる菌として重要であるインフルエンザ菌 nontypable を用いて、中耳粘膜への定着性について検討したので、若干の考察を加えて報告する。

用いた菌は、小児の急性化膿性中耳炎滲出液より分離

培養したインフルエンザ菌で、血清型分類は nontypable である。10% グリセリン加 Brain Heart Infusion Broth にて  $-70^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した細菌を、使用時に融解し、 $\text{Ch}_2\text{CO}$  コレート寒天培地上で overnight 培養した後、PBS に懸濁し、洗浄後、PBS に再懸濁して使用した。組織は、正常モルモットの中耳粘膜を用いた。まず中耳粘膜の部位による菌付着率を比較するため、繊毛上皮部位と扁平上皮部位を用いて実験を行なった。

中耳粘膜の付着した側頭骨を Hanks' solution 中で洗浄後、 $10^9$  CFU/ml に調整したインフルエンザ菌、nontypable を含む HEPES 緩衝 Eagle's minimum essential medium 中で、5%  $\text{CO}_2$  下、1 時間培養した。側頭骨を Hanks' solution 中で振盪しながら 3 回、液を交換し、充分洗浄を行なった後、実体顕微鏡下で、扁平上皮部位と繊毛上皮部位より同一面積、約  $5\text{mm}^2$  の組織片を摘出し、これを 1 ml Hanks' solution 中で、teflon homogenizer を用いて homogenize することにより菌を再浮遊させた。Homogenate の希釈列を作成し、 $\text{Ch}_2\text{CO}$  コレート寒天培地上で overnight 培養後、コロニー数より、粘膜への付着菌数を算出した。

扁平上皮部位 ( $0.50 \times 10^4 + 0.25 \times 10^4$ ) に比較し、繊毛上皮部位 ( $4.66 \times 10^4 + 0.73 \times 10^4$ ) に有意に多数のインフルエンザ菌が付着していた。すなわち、インフルエンザ菌は繊毛上皮に対して高い定着性を示すといえる。次に、この nontypable インフルエンザ菌が、繊毛上皮のどの部位に付着するかを観察するために、インフルエンザ菌と中耳粘膜を培養後、型のごとく走査電顕標本を作成した。

繊毛上皮表面は、繊毛細胞および無繊毛細胞、すなわち杯細胞より構成されているが、繊毛細胞へのインフルエンザ菌の付着はみられず、一部の無繊毛細胞表面に多数の菌が観察され、microvilli の先端にインフルエンザ菌が付着している像が認められた。繊毛細胞への菌の付着は殆どみられないが、繊毛先端に粘液が残存している場合、この粘液に多数のインフルエンザ菌が付着している像が観察された。

以上のことより、インフルエンザ菌、nontypable の中耳粘膜への定着には、杯細胞表面構成物質および杯細胞より分泌される粘液、すなわち複合糖質が関与する可能性が示唆された。そこで、6 種類の糖 (D-fucose : 25 mg/ml, N-acetyl-D-glucosamine : 25 mg/ml, D-galactose : 25 mg/ml, D-mannose : 25 mg/ml, N-acetylneuraminic acid : 1 mg/ml) とインフルエンザ菌を前もって 30 分間培養後、リンスし、以下、前記と同様の方法でモルモット側頭骨と細菌を 1 時間培養し、繊毛上皮粘膜部位を用いて、定着菌数を測定した。しかし、con-

trol に比較し全ての糖で有意の差は認められなかった。*H. influenzae*, nontypable の定着は、単一の糖鎖を receptor とした単純な結合ではないことがわかる。

次に正常中耳粘膜に存在し、非特異的感染防御機構として作用する酵素であるリゾチームのインフルエンザ菌定着に及ぼす影響について検討を加えた。次の4群の実験を行ない、結果を比較した。I：中耳粘膜とインフルエンザ菌を含む培養液中に 500 µg/ml の卵白リゾチームを加えて培養、II：インフルエンザ菌と卵白リゾチームを 30 分間培養後、菌を洗浄し、中耳粘膜とインフルエンザ菌を培養、III：中耳粘膜と卵白リゾチームを 30 分間培養後、粘膜を洗浄し、中耳粘膜とインフルエンザ菌を培養、IV：リゾチームによる処置を加えず、中耳粘膜とインフルエンザ菌を培養。以下前述と同様の操作を行ない、繊毛上皮粘膜に付着した菌数を求めた。その結果、I： $0.68 \times 10^4 + 0.88 \times 10^4$ 、II： $1.54 \times 10^4 + 0.50 \times 10^4$ 、III： $6.83 \times 10^4 + 5.00 \times 10^4$ 、IV： $4.66 \times 10^4 + 0.73 \times 10^4$  と、インフルエンザ菌とリゾチームを pre-incubate した群において、菌の定着抑制が認められた。このリゾチームのインフルエンザ菌定着抑制効果は、粘膜に対する作用よりも、インフルエンザ菌自体に対する直接効果といえる。

以上の結果をまとめると、インフルエンザ菌, nontypable は中耳粘膜中の扁平上皮部位より繊毛上皮部位に高い定着性が認められ、繊毛上皮の中でも杯細胞と思われる無繊毛細胞に菌の定着が認められた。この定着は、6種類の単糖では抑制されず、リゾチームのインフルエンザ菌に対する直接効果により抑制された。このことより、鼻咽腔より耳管を通じて中耳腔に侵入したインフルエンザ菌, nontypable は、繊毛上皮部位の無繊毛細胞表面に定着し、細菌感染症の前段階となり易いことがうかがえた。しかし、この定着がリゾチームにて抑制されることから、リゾチームが中耳粘膜より産生される *in vivo* の状態では、インフルエンザ菌の定着は生じにくいと思われる。

## 5. 高浸透圧下での白血球機能抑制について

松本 哲朗

九州大学医学部泌尿器科

腎盂腎炎発症において、逆行性に腎に至った細菌は尿細管から腎髄質に到達し、腎髄質は宿主側の防御因子との戦いの場となる。さらに腎に細菌を直接接種した感染実験で、髄質は皮質に比べて、極めて感染の成立しやすいことが知られている。この腎髄質の易感染性の原因の

一つとして、髄質における高浸透圧状態が宿主側の防御因子を低下させている可能性がある。高浸透圧の防御因子、特に白血球機能への影響を調べることは興味深い。そこで我々は、腎髄質の高浸透圧の要因として、最も重要と思われる NaCl と尿素濃度の白血球機能、特に食菌能、殺菌能、スーパーオキシド (SO) 産生能への影響を検討した。

白血球は健常ヒト末梢血より分離した。以下結果を述べる。

1) Hanks' balanced salt saline (HBSS) を基本溶液とし、種々の濃度で osmotic substance としての NaCl および尿素を加え、高浸透圧溶液を作製した。NaCl は 140, 270, 370, 470 mM で 255, 515, 715, 930 mOsm/kg となり、尿素では 10, 100, 200, 400, 600, 800 mM で 305, 390, 490, 910, 1,120 mOsm/kg となった。これらの溶液で白血球を 30 分間培養し、トリパンブルー染色法により細胞の viability を検討した。NaCl では 98~81.7%、尿素では 96~94% の viability が保たれていた。

2) 高浸透圧状態での白血球の大腸菌に対する食菌能を検討した。NaCl ではコントロール溶液に比べ、270, 370 mM 溶液では明らかな食菌能の低下がみられた。尿素では、100 mM 溶液はコントロールと差がみられなかったが、400, 800 mM 溶液では明らかな食菌能の低下がみられた。

3) あらかじめ、正常状態で細菌を食食させ、一度白血球を洗浄後、細胞内での殺菌能を同様の高浸透圧状態にすると、NaCl の 270, 370 mM では全く殺菌されなかった。尿素の 100 mM 溶液では殺菌能の低下はみられなかったが、400, 800 mM 溶液では殺菌能の低下がみられた。

4) 次に、phorbol myristate acetate (PMA) で白血球を刺激し、cytochrome C を基質とした SO 産生能について検討した。白血球をあらかじめ NaCl、尿素溶液で 30 分間培養すると、白血球の SO 産生能の低下がみられた。この SO 産生能抑制は同じ浸透圧で比較すると、尿素より NaCl の方が強かったが、白血球の培養時間を変化させると、尿素の方が NaCl より早く SO 産生能の抑制がみられた。

5) NaCl あるいは尿素溶液で白血球を、あらかじめ培養する際、37°C と 4°C で行なうと、NaCl の場合、37°C で培養した際起こる SO 産生能の抑制が、4°C で培養すると全く消失し、SO 産生能は抑制されない。一方、尿素では、37°C でも 4°C でも同様に SO 産生能の抑制がみられた。

6) 白血球を PMA で刺激し、SO 産生を continu-

ous assay で測定しながら、反応の途中で NaCl および尿素溶液を加えて、SO 産生能への直接的な効果を検討すると、NaCl 溶液では SO 産生能に影響がみられず、尿素溶液では濃度依存的に SO 産生の抑制がみられた。

7) NaCl と尿素による白血球の SO 産生能抑制効果は HBSS 溶液にもどしても回復せず、この際 glucose を添加しても回復しなかった。

以上の事実より、NaCl および尿素による高浸透圧状態では白血球の貪食能、細胞内殺菌能、SO 産生能が抑制された。さらに、NaCl の SO 産生能抑制は温度、時間などに影響され、cell metabolism に依存し、細胞の Na ポンプの活性化に伴う細胞内エネルギー消費によるものと考えられる。尿素の SO 産生抑制は温度や時間に影響が少なく、より直接的であり、しかも尿素は速やかに、また passive に細胞内へ移動し、種々の蛋白を denature することから、尿素は白血球細胞内酵素の直接阻害、または SO の scavenger として作用した結果と考えられる。

このような高浸透圧による白血球機能に対する保護物質、すなわち osmoprotectant の検索を行なっている。その osmoprotectant として、choline 誘導体を有力視しているが、現在のところ choline 誘導体のうち、腎尿細菌で産生される betaine や proline などには、この白血球の SO 産生に対する osmoprotectant としては作用しなかった。

## 6. 尿路性器感染症における大腸菌の pili と上皮細胞に対する接着性

後藤 俊 弘

鹿児島大学医学部泌尿器科

細菌の上皮細胞に対する接着性は、感染症の成立に関与する多数の因子のなかでも重要な因子の一つであり、pili は腸内細菌に共通して出現する細菌の接着因子である。尿路に基礎疾患を持たない単純性尿路性器感染症においては、分離菌の 80% 以上が大腸菌で占められており、尿路性器感染症における細菌の virulence factor の検討に適している。今回のシンポジウムでは、大腸菌の pili と上皮細胞に対する接着性を中心に行なった検討成績を報告した。

### 1. 材料と方法

A. 尿路性器感染症由来大腸菌の pilus type, hemagglutination (HA) titer, hemolysin (HL) 産生能：尿路性器感染症由来大腸菌 160 株の保有する pilus type をスライド凝集法により検討した。モルモット赤血球 (GPRBC) に対する凝集反応が、マンノース

(Man) で抑制される (MSRBCHA) 株を type 1 pili, ヒト O 型赤血球に対する凝集反応が、Man で抑制されない (MRRBCHA) 株を MR pili 保有株、さらに、ヒト P1 血液型抗原の carbohydrate 部分である  $\alpha$ -D-Gal-(1-4)- $\beta$ -D-Gal 分子に結合する pili (type 2 pili) を PPA テスト試薬を用いて同定した。HA titer は GPABC の凝集を形成するのに必要な最低菌数の対数値で表わし、HL 産生能は羊赤血球寒天培地のコロニー周囲に形成される溶血帯の有無により判定した。

B. 上皮細胞に対する接着性：ヒト、家兎、マウスの尿路上皮剥離細胞ならびに腎、膀胱凍結組織切片を用いて、保有する pilus type が異なる大腸菌の接着性と、接着性に及ぼす Man、ヘパリン、pentosan polysulfate (PPS) の影響を検討した。

C. 動物での検討：in vitro の検討と同様の目的で、動物の尿路性器に菌接種、48 時間後の臓器内生菌数を測定した。また、動物や臓器における細菌の結合部位であるレセプターの分布や濃度の変化を検討するため、特定の糖鎖と結合するレクチンを用いて上皮細胞の染色性を調べた。

### 2. 成績

A. 尿路性器感染症由来大腸菌の pilus type, HA titer, HL 産生能：尿路性器感染症由来大腸菌 160 株中 151 株、94.4% が type 1 pili 保有株であった。type 2 pili 保有株と MR pili 保有株はいずれも 47 株、29.4% であり、type 2 pili 保有株の大半の株は MR pili も保有していたが、type 2 pili と MR pili とは異なる pili と考えられた。疾患由来別にみると、急性単純性腎盂腎炎 (AUP) と前立腺炎 (Pro) 由来株で、type 2 pili 保有率が高く、これらの疾患における大腸菌の重要な virulence factor の一つであることが示唆された。細菌の接着因子である pili の産生は、細菌の発育環境により左右されることが、種々の培地を用いて行なった今回の検討でも、明らかにされた。しかし、ABPC、AMK などの抗生剤の pili 産生に与える影響は小さく、寒天培地における type 1 pili の産生と、尿を含む液体培地における type 2 pili と MR pili の産生低下傾向が認められた。HA titer は、pilus type 別にみると、type 2 pili 保有株のほうが非保有株より、疾患別には、急性単純性膀胱炎と Pro 由来株が他疾患由来株よりも高く、HL 産生能を示す株は、pili 非保有株に比べ type 1 と MR の両方の pili を保有する株に多く、疾患別には、AUP と Pro 由来株に多く認められた。剥離細胞ならびに凍結組織接着性に対する接着性は、pili を保有する大腸菌の方が非保有株に比べ高く、マンノースは接着性には大きな影響を与えないが、acid mucopolysaccharide である

PPS, ヘパリンは接着性を抑制する傾向を認めた。家兎尿管ならびにマウス膀胱内に大腸菌株を注入, 48 時間後の腎内生菌数は, pili 非保有株接種群に比べ, type 1 pili 保有株, ならびに type 1, type 2, MR の 3 種類の pili 保有株接種群で多く回収され, 組織学的にも腎盂腎炎の成立が確認された。しかし, pili 非保有株接種群でも, 菌液注入後尿管を 15 分以上閉塞することにより, 回収される家兎腎内細菌数は増加した。また, マウスにおける PPS の膀胱内注入または, 経口投与後に菌液を接種した群ではマンノース注入群に比べ, 腎内生菌数は 100 ないし 1,000 分の 1 以下に低下した。精管内注入による副性器の炎症にはその成立性に差が認められ, ラットにおいては前立腺炎が成立するが精囊腺炎成立せず, 家兎ではその逆であった。さらに, レクチン染色性の検討では, ラットと家兎で前立腺の Con A レクチン染色性が異なること, 尿管閉塞 15 分後に摘出した家兎腎の PNA レクチン染色性が正常家兎腎に比べ増強する成績

が得られた。このようなレクチン染色性の差や変動は尿路性器上皮細胞における糖鎖の差や変化を示すものであり, ホストにおけるレセプターの差や変化が, 細菌の接着性の違いをもたらす可能性も示唆された。細菌の pili に特異的な carbohydrate や, 非特異的に菌の接着性を抑制する PPS などにより, 上皮細胞への細菌の接着が防止できれば, 臨床的にも有効な治療・予防手段となりうる。

細菌の上皮細胞に対する接着性は, 感染成立に関与する種々の因子のうちの一因子に過ぎないため, *in vitro* での接着性の検討成績がそのまま *in vivo* の検討成績に反映されるとは考えない。また, 細菌の定着が即感染成立を意味するものでもない。しかし, 今回の検討成績から, 大腸菌の pili と上皮細胞への接着性は感染成立における initiator の一つとして重要な因子であると考えられる。