

第39回日本化学療法学会西日本支部総会

会期:平成3年12月12, 13日

会場:大分文化会館, 大分市コンパホール

会長:那須 勝 (大分医科大学内科学講座)

教育講演

抗癌剤に対する防御機序と克服

桑野信彦

大分医科大学・医学部生化学教室

抗癌剤による癌化学療法の近年の発展は目ざましく、化学療法のがん治療に大きく貢献しつつある。アドリアマイシン、シスプラチン、エトポシド、カンプトテシン、タキソールなど最近開発された臨床応用されている抗癌剤は癌治療において有意な効果を示している。しかし、これらの抗癌剤を患者に投与するとはじめは著明な効果を示す場合にも投与を続けているうちに抗癌剤の効果が減弱してくることがしばしば臨床分野で経験されている。このことは、生体内において化学療法のもとに抗癌剤に抵抗性を示す癌が出現していることを示唆しているのである。アメリカ国立癌研究所のYoung博士によると癌と診断された患者のうちに約50%が抗癌剤耐性と何らかの関連を示し、癌死亡患者の90%以上は抗癌剤耐性と関連することを報告している。“耐性癌”の出現は癌化学療法をさらに向上発展させる上で大きな関門となっている。

癌は巧みな機構で抗癌剤に対して耐性を獲得していることが考察される。癌の耐性の獲得機序は抗菌剤に対する細菌などの耐性獲得としばしば対比される(Table 1)。特に、癌化学療法において抗菌剤による

治療と異なり、標的の癌と宿主の組織や細胞性質との違いが極めて少ないことは注目すべきことである。抗癌剤の癌への特異性が少ないために、抗癌剤による治療期間が長くなり耐性癌の出現を容易にしているのではないかと推察される。そこでこの耐性癌の機構を明らかにし、その耐性克服を考察していくことは癌化学療法をさらに発展させる上できわめて大切である。

生体内に出現した“耐性癌”を直接対象にして耐性の機構を明らかにする研究を進めることは難しい。そこで1970年代後半から発展してきた薬剤耐性に関する体細胞遺伝学を駆使して抗癌剤耐性の仕事を進めることにした。すなわち、抗菌剤に対する耐性因子を検索するのと同じ原理で、抗癌剤に対して抵抗性を示す耐性癌細胞株を培養系の癌細胞の集団から単離して、耐性獲得に関与する因子を同定する仕事を始めた。その結果、ビンクリスチン、アドリアマイシン、シスプラチンやエトポシドなどに対する耐性などについて仕事を進めたので、その耐性獲得機構と耐性克服について言及したい。

1. 多剤耐性 (multidrug resistance: MDR)

1つの薬剤、たとえばビンクリスチンやコルヒチンまたアドリアマイシンなどに対して耐性癌細胞株を培養系で単離したところ、構造的にも作用機序的にも異なる他の多くの抗癌剤に対して同時に交差耐性を獲得していることが観察された。この耐性は多剤耐性(MDR)と呼ばれることになった。Table 2に我々の研究室でビンクリスチンで選択したKB由来の多剤

Table 1. Comparison of limiting factors for drug-sensitivity between antimicrobial and anticancer therapy

Factors	Antimicrobial	Anticancer
1. "Parasite"	Exogenous	Own Tissues
2. Biochemical and Anatomical Difference from Host	Great	Not Unique
3. Host Defense Mechanism	Strong	Weak, Decreased
4. Drug Toxicity	Selective	Nonselective
5. In Vitro Tests	Predictive	Not Predictive
6. Pharmacological "Hideouts"	Less Significant	Significant
7. Treatment	Brief	Protracted
8. Drug-Resistance during Treatment	Rare	Common
9. Cell Proliferation	Rapid, No. "Go"	Slow, Long "Go"
10. Cell Population	Unifrom	Heterogeneous

Table 2. Drug resistance of multidrug-resistant VJ-300 and etoposide-resistant KB/VM-4 derived from KB cells and cisplatin-resistant G/CDP-2 from CHO cells to anticancer agents. Relative drug resistance of each drug-resistant cell line was determined when normalized by LD90 of each parental cell

Anticancer agents	Relative resistance		
	VJ-300	KB/VM-4	C/CDP-2
Andiamycin	10	14	1
Vincristine	400	2	1
Actinomycin	100	2	—
Daunomycin	20	9	1
Etoposide	5	150	1
Teniposide	5	110	—
Camptothecin	4	0	—
Cisplatin	1	0.5	10

耐性株 VJ-300 の他剤に対する耐性度を示している。この MDR の獲得にはヒトでは染色体 7 番目に存在する MDRI 遺伝子の産物である P-糖蛋白が関与していることが明らかになっている。すなわち、P-糖蛋白は膜に局在し、ATP 依存的に抗癌剤を細胞内から外へ放出する反応を触媒する分子量 17 万の膜蛋白である。

培養系の癌細胞から樹立された MDR 細胞における MDRI 遺伝子の発現は、MDRI 遺伝子のコピー数が増加するいわゆる増幅型による場合と、コピー数の増加はないが転写レベルなどで発現が促進する場合が観察されている。しかし、生体内の組織や細胞さらに癌細胞においてはほとんどの場合 MDRI 遺伝子の発現は増幅ではなく転写などのレベルで制御を受けている。そこで我々は、MDRI 遺伝子の発現を制御しているプロモーター及びエンハンサー領域を MDRI 遺伝子ゲノムの上流から単離した。

癌患者由来の数多くの腫瘍について、MDRI 遺伝子の発現の有無と耐性獲得との関連性について解析が進められた。大腸、腎、肝副腎等の癌や白血病、T 細胞白血病、ホジキン等数多くの症例で高い陽性率を示した。特に注目すべきは白血病などで化学療法後に陽性になることが報告されたことであった。このことは化学療法後に再び出現してくる癌が抗癌剤に抵抗性を示す事実と何らかの関連があることを示唆してきわめて重要な知見と我々は考えた。そこで、我々の研究室では抗癌剤そのものが MDRI 遺伝子また P-糖蛋白の発現を誘導するのではないかと考え、MDRI のプロモーターを用いて検討した。その結果、シスプラチンや 5-フルオロウラシルやエトポシド等数多くの

抗癌剤が MDRI 遺伝子の発現を促進することが観察された。

他方、P-糖蛋白を標的にして、その機能を阻害する薬剤を検索し、耐性克服剤を見出す仕事を始めた。その結果、我々の研究室では臨床にすでに使用されている薬剤の中からセファランチン、ジピリダモール、レチニール・パルミテート、チオリダジンを、合成薬剤の中からイソプレノイドやジハイドロピリジンの誘導体が各々、*vitro* また *vivo* で多剤耐性克服作用を示すことを見出した。これらの薬剤は P-糖蛋白と高親和性を示し、多剤耐性癌細胞内の抗癌剤の蓄積量を増大することが観察された。特に我々は、Ca²⁺-拮抗作用の少ない合成イソプレノイドやジハイドロピリジンに期待をよせている。

2. P-糖蛋白を介さない抗癌剤耐性—シスプラチンやエトポシド耐性

DNA トポイソメラーゼを標的にする抗癌剤もカンプトテシン (CPT-11)、エトポシド (VP 16) やテニポシド (VM 26) をはじめとして数多く知られている。VP 16 や VM 26 に対する耐性株を KB 細胞から単離したところ、他の多くの抗がん剤に対しても抵抗性を示した (Table 2)。耐性の機序を調べていった結果、温度感受性の増殖を示す性質と VP 16 の細胞内蓄積の減少とともに DNA トポイソメラーゼ II の発現の減少が VP 16/VM 26 耐性において観察された。DNA-VP 16-トポイソメラーゼ II の 3 つの DNA 切断複合体の形成が癌細胞に致死的に働くと考えられている。耐性株においてトポイソメラーゼ II の発現量を減少させることによってこの DNA 切断複合体の形成を低下させていることが推察される。

最近、我々の研究室で多剤耐性を克服する作用を示すジハイドロピリジンの中から KB や KB/VM-4 株において VP 16 を 10~20 倍増強する薬剤を見出した。これらのジハイドロピリジンは白血病マウスにおいても著明に VP 16 の抗癌効果を増強させることが観察されている。

近年、癌化学療法でその抗癌効果に多大の注目を集めているシスプラチンに対しても耐性を獲得した癌の出現が観察されている。シスプラチンの耐性には、膜透過性、DNA 修復能、メタロチオネインさらにグルタチオン (GSH) また GSH 関連酵素等の関与が報告されている。我々の研究室では、ハムスター卵巣 CHO 細胞およびヒト前立腺癌細胞からシスプラチン耐性株を各々単離した。シスプラチン耐性株はシスプラチンやカルボプラチン等に耐性を示す以外は比較的他剤に対しては交差耐性を示さないのが特徴である

(Table 2)。C/CDP-2株においてはGSH-トランスフェラーゼ- π (GST- π) の発現が上昇していることが観察されたが前立腺癌細胞由来の耐性株では上昇はまったくみられなかった。多岐にわたる耐性因子の中でC/CDP-2ではGSTが関与していることが示唆された。シスプラチンの耐性を克服するために米国のOzolsらはGSHの合成阻害剤であるBSO (buthionine sulfoximine) を用いていることは興味深い。

癌が示す巧みな耐性獲得機序は多岐にわたっている。P-糖蛋白, DNAトポイソメラーゼやグルタチオン関連酵素等の変化ではその一部しか説明できない。今後、数多くの抗癌剤耐性株を樹立し数多くの耐性因子を明らかにして耐性癌の診断を進めていく必要がある。さらに、それらの耐性因子を標的にして、抗癌剤や耐性克服剤を考案していくことは大切な我々の今後の課題である。

参考文献

- 1) 佐分利, 麻生, 河野, 桑野: 臨床と研究 66: 784~790, 1989
- 2) 河野, 桑野: 癌と化学療法 17: 1975~1981, 1990
- 3) 桑野, 高野, 木上, 佐藤, 宮崎, 河野: 腫瘍と感染 3: 471~478, 1990
- 4) 河野, 桑野: Oncologia 23: 16~24, 1990
- 5) 内海, 谷村, 渡辺, 佐藤, 宮崎, 河野, 桑野: Oncology & chemotherapy 6: 295~300, 1990
- 6) 河野, 高野, 桑野: 癌と化学療法 18: 1568~1573, 1991
- 7) 宮崎, 麻生, 河野, 桑野: KARKINOS 4: 389~396, 1991
- 8) 桑野, 佐藤, 中山, 秋山: 消化器癌 1: 印刷中, 1991
- 9) 桑野, 河野: 「分子生物からバイオテクノロジーへ」(共立出版)印刷中, 1992

特別講演 (I)

術後感染予防抗菌剤の投与計画

品川長夫

名古屋市立大学第一外科

はじめに

術後感染症とは術後に発症する感染症のすべてをさす。その病原微生物は細菌ばかりでなく、ウイルス、マイコプラズマ、真菌、原虫などすべての微生物が含まれる。現在、術後感染予防として使用される抗菌剤

は、結核菌などの抗酸菌など一部の細菌を除いた細菌感染症の予防のためのものである。ここでは術後の細菌感染症予防のための抗菌剤投与計画に関して述べる。

術後感染予防比較試験の計画

術後感染症よりの分離菌をみると、使用された抗菌剤の影響を受け分離菌は変遷してきている。1975年から1980年では、*E. coli* や *Klebsiella* およびその他のグラム陰性桿菌が大きな問題となり、セフェム系薬剤が必然的に主な使用薬剤となった。1981年より感染予防について Prospective Study を施行するようになったが、その試験計画の考え方は以下の成績に基づいた。まず、J F Burke により、感染予防としての薬剤は、手術後3時間以上経た場合は効果がないことが実験的に示された。このため手術に併用した化学療法は、手術中を通じ手術野を中心に有効な薬剤濃度を保つことが有利と考え、手術開始時に点滴で投与することにした。また、無菌手術ではグラム陽性球菌が、準無菌手術では腸管内細菌であるグラム陰性桿菌による汚染の頻度が高く、術野細菌と術後感染との関連が認められた。このためこれらの術中汚染が予想される細菌に対して抗菌力のある薬剤が適切と考えた。以上の結果を考慮し、術後感染予防としての抗菌剤投与について Prospective Study を開始した。

無菌小手術ではDKBの創局所への1回投与、無菌大手術ではABP・CMCIPC合剤の24時間カバーであった。準無菌手術では、上部消化管手術でCET、下部消化管手術でCFX、胆道系手術でCEZを選択し、投与期間を4日または7日間の無作為割り付けとした。

術後感染予防 Prospective Study の成績

手術野に関連した創感染、腹腔内膿瘍などが予防的抗菌剤投与の主たる対象であり、かつ予防可能な病態であると考えられるが、創感染が4.0%、腹腔内膿瘍が1.2%であり、5群に分けた各種抗菌剤の予防効果はあると考えられた。

薬剤の投与期間については、4日間投与と7日間投与とで術後感染発症率に差は認められなかった。すなわち4日間の投与後で感染が疑われるときはそのまま同一薬剤の投与を続けるより薬剤を変更することが理論的であると判断された。悪性腫瘍では良性腫瘍と比較し術後感染の発症率が有意に高率であり、基礎疾患、貧血、栄養などのいくつかの感染リスクファクターの存在が示唆された。この試験中に分離された起炎菌はいわゆる弱毒のグラム陰性桿菌が中心であった事実はその後の薬剤選択の根拠となった。

胆道系疾患の手術については、胆汁中細菌と術後感染起炎菌との関連が認められた。すなわち胆汁中細菌陽性例では陰性例と比較し術後感染発症率が有意に高かった。また胆汁中細菌の2/3は術後感染起炎菌と一致する結果が得られた。すなわち胆道系手術では術中に胆汁の汚染が避けられない場合が多いが、この場合には胆汁中細菌を目標に抗菌剤投与をすることが合理的であると考えられた。

また、今後の問題としてもいくつかの事項が浮び上がった。すなわち、術後感染症の起炎菌には多くのものがある。患者側の背景因子を把握する必要がある。薬剤の投与方法についても検討すべき事項がある。新しい薬剤の検討が必要であることなどであった。この時点でヘルニア等の無菌小手術では1回投与、乳癌等の無菌大手術では24時間カバーで十分であると考えた。以後は感染率の高い消化管手術を中心に検討していくこととなった。

術後感染予防とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)出現の関係

1983年3月より1991年9月までは術後感染予防として抗菌剤を一定とし、術後感染発症率とその起炎菌の変遷をみてきた。この期間中にMRSAが出現してきたがその状況は以下のごとくである。

この期間では、上部、下部消化管および胆道系の定期手術を受け、術後感染予防についての比較試験に組まれた1,519例を対象とした。主に第2世代セフェム剤と第3世代セフェム剤を中心に使用した。上部消化管手術では胃癌が、下部消化管手術では結腸、直腸癌などの悪性腫瘍が多かったが、胆道系手術では胆石症などの良性疾患が圧倒的に多かった。

1983年より第3世代セフェム剤を使用してきたが、術後感染起炎菌としてMRSAの分離は1988年に入ってからであった。またこの期間におけるセフェム剤の使用と*S. aureus*および*Pseudomonas* spp.分離率との関係を見ると、第2世代セフェム剤使用例においても第3世代セフェム系剤使用例においても、*S. aureus*と*Pseudomonas* spp.の分離頻度には差がみられなかった。

手術部位別にグラム陽性球菌総数および*S. aureus*の分離率を見ると、いずれも上部消化管手術後に分離率が高かった。特にMRSAの分離は1988年以降に、しかも上部消化管手術後に多くみられた。MRSA分離症例は下部消化管手術の2例を除きいずれも胃切除、胃全摘あるいはH₂ブロッカーが投与された症例であった。

胃液Phと胃液よりのブドウ球菌分離頻度を検討し

たが、胃内のPhの上昇と共に有意に胃液よりブドウ球菌の分離率が上昇していた。すなわち胃内酸度の低下はMRSA感染と関連すると考えられる結果であった。

術後患者を含め重症患者への感染経路には、外因性、内因性汚染経路に加えMRSA感染のように二次的内因性汚染経路が考えられる。術後MRSA感染の多くは、入院より手術までの間に院内環境のMRSAが患者に定着し術後早期に腸炎を発症すると考えられた。一方、腸炎以外のMRSA感染は術後外因性汚染経路をとって発症する場合も多いと考えられた。MRSAの汚染経路からみるとその予防は院内感染対策によるべきものであり、特殊なケースを除きvancomycinやminocyclineの予防投与に妥当性はないと考えられる。

予防的抗菌剤投与の原則

現在までの成績から判断して、術後感染予防抗菌剤の投与については以下のうように考えている。まず、薬剤の選択については、手術中に侵入してくる細菌に対して抗菌力を有する薬剤、手術野などの目的部位で有効な濃度が得られる薬剤、重篤な副作用の発現頻度が低い薬剤、常在菌叢など生体環境を乱すことの少ない薬剤、さらに不幸にして術後感染を発症した場合を想定しその治療薬を考慮した上で薬剤を選択するということなどである。

薬剤の投与方法については、手術中を通じて薬剤の有効濃度を保たせるため点滴で投与する。投与量は中等度感染症のに対する投与量が目安である。投与回数は1日2~3回を1~4日間投与する。4日たつて感染が疑われる場合には、同じ薬剤の投与を続けるより早期治療として薬剤を変更する必要がある。

おわりに

術後感染の病原微生物は、細菌ばかりでなくウイルス、マイコプラズマ、真菌、原虫など多くのものがあげられる。使用している薬剤の有効スペクトルを十分に認識していることは重要である。

特別講演 (II)

尿路感染症における *Enterococcus* の意義と化学療法

荒川創一

神戸大学医学部泌尿器科

尿路感染症からの *Enterococcus* の分離頻度は、ここ10年間で多くの施設で一致して高くなっており、

その背景因子としてセフェム剤が臨床によく使用されてきたことも一般に指摘されている。*Enterococcus*が腸内常在菌であることから、尿路に内因性感染を引き起こすことは容易に想定されるが、実際に本菌がどのような病原性と臨床的意義をもつかは必ずしも明確にされていない。

演者は、尿路感染症における本菌の意義と化学療法につき考察を加える目的で、*Enterococcus*の分離頻度とその薬剤感受性を検討するとともに、マウス上行性腎盂腎炎モデルにおける*Enterococcus faecalis* (以下*E. faecalis*) および*Enterococcus faecium* (以下*E. faecium*)の病原性と各種薬剤治療効果を検討した。また、尿中からこれらの分離された臨床例について、その背景、病態および化学療法に対する反応などにつき解析を加えた。

(1) 分離頻度と薬剤感受性

i) 分離頻度

神戸大学医学部附属病院泌尿器科において、尿中から 10^4 /ml以上分離された細菌について、1986年から90年までの5年間の推移をみると、入院では*E. faecalis*、*E. faecium*とも分離頻度の上位を占め、前者が20%前後、後者が10%前後であるのに対し、外来での*Enterococcus*としては*E. faecalis*がほとんどで、15%前後で推移している。

この外来での*Enterococcus*の分離については、一次医療機関としての一般開業の泌尿器科クリニックおよび二次機関としての公立病院泌尿器科でも、複雑性尿路感染症では大学病院と同様に比較的多数分離されている。

ii) 薬剤感受性

ディスクによる*E. faecalis*と*E. faecium*の薬剤感受性率をみると、大学病院での成績は、前者はペニシリン感性であるが、セフェムには多くが耐性であり、後者はペニシリンにも大多数が耐性を示している。

MIC分布でみると、*E. faecalis*はニューキノロンとABPC、IPMで好感受性であり、*E. faecium*はニューキノロンで比較的良好なるも、その中でも耐性株がみられる。

(2) マウス感染実験

i) *E. faecalis*の病原性

JCL-ICR雌マウスを用い、経尿道的菌接種により上行性腎盂腎炎を作成し、7日目の腎割面スタンピング法による菌回収の有無からID₅₀値を算定するとともに、40日目まで病理組織学的変化を追跡することにより、本菌の尿路への病原性を検討した。また、streptozotocin静注により糖尿病マウスを作成し検討

に用いた。その結果、臨床症例の尿中から分離された*E. faecalis* 11株のマウス腎に対するID₅₀値は、菌株により差がみられたが、無処置および糖尿病マウスのいずれでも、対照とした*E. coli*、*P. aeruginosa*等のグラム陰性桿菌と同等の一定の病原性を示すものもみられた。また、無処置マウスと糖尿病マウスでそのID₅₀値を比較すると、*E. faecalis* 5菌株では、両者の比が1/477~1/1.3と糖尿病マウスで値が低く、その易感染株が示された。

*E. faecalis*接種7日目の腎には膿瘍が形成され、組織学的に尿細管内および間質に好中球の浸潤を認め、同じく40日目には、尿細管の破壊が進行しているものの線維化は軽度で、慢性炎症像を呈していた。

ii) *E. faecalis*感染治療実験

上記感染実験モデルにおいて、菌接種後1日目から、1日2回の投薬を無処置マウスでは5日間、糖尿病マウスでは同種に5日間の群(DM-1群)と10日間の群(DM-2群)計3群で薬剤治療効果を検討した。その結果、無処置マウスではニューキノロン、MINOなどがMICに見合った成績を示したが、DM-1群ではほとんどの薬剤で治療効果がみられず、DM-2群では無処置マウスと同等のED₅₀値が得られた。このことから、糖尿病マウスでの*E. faecalis*上行性腎盂腎炎では、無処置マウスと同等の治療効果を得るのに2倍の投薬期間を要することが示された。

iii) 複数菌接種モデル

マウスにおける*E. faecalis*と*Proteus mirabilis*(以下*P. mirabilis*)の複数菌接種上行性腎盂腎炎モデルを作成した。前者の 10^6 CFU/mouse、後者の 10^5 CFU/mouseを同時に経尿道的膀胱内接種し、3, 7, 14日目に腎ホモジネートから回収される両菌の菌数を別々に測定した結果、*P. mirabilis*の回収菌数が*E. faecalis*のそれより多く、腎盂腎炎に*P. mirabilis*が優位に関与していることが示された。また、本実験系において薬剤治療効果を検討した結果、ニューキノロン、ABPCなどの低用量群では、*P. mirabilis*は除菌されても*E. faecalis*の残存する傾向がみられ、*E. faecalis*の日和見感染菌としての重要性が示唆された。

iv) *E. faecium*感染実験

*E. faecalis*の単独接種での実験と同様に、上行性腎盂腎炎モデルで、腎割面スタンピング法を用い、臨床症例の尿中から分離された*E. faecium* 11株のマウス腎に対する病原性を検討した。その結果、ID₅₀値は菌株により異なっていたが、対照のグラム陰性桿菌に匹敵する株も認められた。次いでcompromised host

nrodelとして、cucloprospremide 処理（膀胱内投与）による白血球減少マウスを用い、それらにおける *E. faecium* 4 株の ID₅₀ をみると、無処理マウスに比し 1/250~1/17 の少ない菌数で感染が惹起されることが示された。病理所見として、上行性感感染をおこしたマウス腎には肉眼的に膿瘍がみられ、組織学的にも炎症細胞の浸潤を認め非特異的な腎盂腎炎の像を呈していた。

感染治療実験としては、前述の *E. faecalis* の実験モデルと同様、5 日間の投薬を行い検討した結果、SPFX, TFLX 等ニューキノロンがすぐれた効果を示し、ABPC は無効であった。

(3) 臨床症例の解析

i) *E. faecalis* 分離の尿路感染症

1989 年から 90 年の 2 年間に当科で尿中から 10⁴/ml 以上分離された例の成績を示す。*E. faecalis* はその 41% が外来、59% が病棟で分離され、単数菌、複数菌の別が明らかであった 69 例の内訳をみると、外来、入院とも同様にやや複数菌分離が多く、その菌種数は 2~3 種が大多数を占めている。それら *E. faecalis* の分離された尿路感染症の病態をみると、カテーテル留置は 19% で、単数菌分離では下部尿路感染が圧倒的に多く、複数菌分離での同時検出菌は *C. freundii*, *P. aeruginosa*, *E. coli* の順であった。基礎疾患を検討し得た例中、膀胱腫瘍が 44% と最も多く、前立腺肥大症、神経因性膀胱と続き、基礎疾患のない急性単純性膀胱炎からの分離も 2 例でみられた。

ii) *E. faecium* 分離の尿路感染症

1988 年から 90 年の 3 年間で同様に検討した本菌分離例は大多数が入院症例で、その病態は、*E. faecalis* とは逆に尿路カテーテル留置症例が 63% と多くを占める反面、複数菌分離は 24% と少なく、その同時分離菌としては *P. aeruginosa* が目立った。これら *E. faecium* 分離例はすべて尿路に何らかの基礎疾患を有し、その中でやはり膀胱腫瘍が多く、本菌分離形態として最多のカテーテル留置の単数菌感染例は、膀胱腫瘍に対する膀胱全摘後に腸管で形成した代用膀胱内に、手術後まだカテーテルが留置されている時期のいわゆるパウチ感染からの分離であった。

iii) 化学療法の反応、経過

Enterococcus 分離の複雑性尿路感染症に抗菌薬を投与すると、いったん除菌されても休薬後再出現していることも少なくない。しかし、それら再出現菌も、自然に尿中から消去する transient として検出される場合も多い。総体的に本菌は、尿路に比較的停留する傾向があるが、強い炎症を呈すことは多くない。しか

し、宿主条件によっては、発熱性腎盂腎炎や、さらに尿路閉塞などの合併により全身感染をひき起こす可能性があるものと考えられる。これらのことから、尿中から本菌が分離された場合の抗菌化学療法の適否については、個々の病態、基礎疾患などを考慮して慎重に決定すべきであり、宿主の尿路局所の状況や全身状態を改善させるという点にも目を向け対応しなければならないといえる。

本研究は、長久裕史、山下真寿男、藤井 明、川端岳、山崎 浩、田中勝久、片岡陳正、守殿貞夫の諸兄との協同研究であることを付記する。

特 別 講 演 (III)

Chlamydia pneumoniae による 呼吸器感染症

岸本寿男

川崎医科大学呼吸器内科

近年話題となっている新しいクラミジア *Chlamydia pneumoniae* による呼吸器感染症について、特に本邦におけるその疫学、臨床を中心に我々の検討成績を含めて述べた。

従来、クラミジアは *Chlamydia psittaci* と *Chlamydia trachomatis* の 2 種に分類をされていたが、1989 年に *C. pneumoniae* が第 3 番目の種として提唱、認知されて以来、現在では 3 種に分類されている。

これらクラミジアが起す呼吸器感染症としては、従来より *C. psittaci* によるオウム病が良く知られているが、近年、トラコーマや非淋菌性尿道炎の病原体として知られる *C. trachomatis* による乳児肺炎、あるいは成人咽頭炎が性感感染症の変貌と共に問題視されるようになった。そして最近、これらに加えて、*C. pneumoniae* が、worldwide に存在する新たな呼吸器感染症の病原体として注目されるようになり、現在クラミジア呼吸器感染症は大きく様変わりをしているといえる。我々も本邦における血清抗体保有率の高さや臨床例の検討から、*C. pneumoniae* の呼吸器感染症における病原体としての重要性を指摘してきた。

<疫学> これまでに世界各国で、血清疫学調査が行われているが、アメリカや欧米各国での 40~50% 前後という報告に比べ、台湾、パナマ、イランなどでは 60% 以上と、人工密度が高く温暖な地方での保有率がより高い傾向がみられている。

これまでクラミジアの血清抗体価測定には主として Wang らの開発した micro-IF 法が用いられるが、

EBを抗原とするため特異性は高いものの、抗原精製が繁雑で判定にも若干熟練を要する。そこで臨床疫学調査を始めるにあたり、より簡便な検査法として知られるMicroplate immunofluorescence antibody technique: MFA法が応用可能かどうかを検討致した。抗原に属特異性の反応の強い感染細胞を用いる点で、一種類のクラミジア抗原では感染種の鑑別はできないが、MFA法の開発者である別所、松本らは*C. psittaci*と*C. trachomatis*の感染細胞を用い抗体価の比較を行えば、感染クラミジア種の鑑別は可能であるとしており、我々はこれに*C. pneumoniae*の感染細胞を加えて検討した。

*C. pneumoniae*感染マウスの血清を用いて各クラミジア抗原の反応をみたところ、交叉反応はある程度存在するものの*C. pneumoniae*抗原に対しほかの2種に比べて4倍から32倍、より高抗体価を示した。また*C. psittaci*、*C. trachomatis*感染マウス血清を用いた成績でも、それぞれ同様に感染クラミジア種と同じ抗原に対し特異的に上昇していた。したがって未知のクラミジア感染血清を3種の封入体を抗原とするMFA法で測定比較すれば感染クラミジア種の鑑別は可能と考えられた。

また*C. pneumoniae*感染マウスの血清を用いてMFA法とmicro-IF法との相関をみたところIgG、IgM共に良好な相関を示し、またMFA法が約2管高値を示しており感度も良好と思われた。

以上の成績より、MFA法を*C. pneumoniae*の臨床疫学的検討に用いることは可能であろうと考え、以下の診断基準を設けた。各クラミジアの特異抗体保有はIgGが64倍以上で、かつ他2種のIgGより高値であることとした。これを用いて血清疫学調査を行った。

対象は主として岡山県在住の0歳から95歳までの1,745例で、患者は当院ならびに関連施設を1987~89年の3年間に受診した急性呼吸器感染症例である。コントロール群は成人ではドック入院や健康人ボランティアで、小児では呼吸器疾患や発熱疾患以外で当院形成外科、皮膚科等を受診した児の血清を用いた。15歳以下の小児では、コントロール、患者群共に*C. pneumoniae*に対する抗体保有は30%程度認められたが、両群に有意差はなかった。一方*C. trachomatis*や*C. psittaci*に対する抗体保有は約2~3%前後といずれも低率であった。これに対して成人では、コントロール群でも*C. pneumoniae*に対して67.4%と非常に高率に抗体保有を認め、患者群では74.2%とさらに有意に高率であった。しかもIgGの512倍以上や

IgAの128倍以上といった最近の感染が疑われる例も有意に患者群に高率に認められた。この結果より、我が国においても、*C. pneumoniae*がごく一般的に存在し成人の急性呼吸器感染症に少なからず関与していることが示唆された。一方、*C. trachomatis*に対する抗体保有は、約10~13%と小児に比べ高率であったが、両群間に有意差はなかった。*C. psittaci*は小児とほぼ同じ2~3%前後と低率であった。

これまで諸外国では抗体保有は男性が10~25%高率であるとする報告がみられているが、我々の検討ではコントロール、患者群共に抗体保有については有意差は認めなかった。次に年齢による抗体保有率は欧米の報告同様5歳までは低率であり年齢と共に上昇していた。ただし我々の成績では5歳以降急激な保有率の上昇を示し、15歳で約60%に達した後はほぼ横這い状態で推移しており、欧米と比較すると、小児期における急激な上昇が特徴的であった。

次に、*C. pneumoniae*の急性感染の診断基準を、原則としてペア血清での特異IgGあるいはIgAの4倍以上上昇とし、シングル血清では特異IgMが1:8以上を示したものとして以下の臨床的検討を行った。

最近の3年間でクラミジア抗体を測定し得た肺炎74例、急性上下気道感染161例、慢性呼吸器疾患の急性増悪63例、計298例についてみたところ、*C. pneumoniae*急性感染は肺炎の8.1%、急性上下気道感染では6.8%、慢性呼吸器疾患の急性増悪では3.2%に認められ、やはり、本邦での呼吸器感染症に占める*C. pneumoniae*感染の頻度は決して少なくないものと思われた。

また*C. pneumoniae*感染症は研究の発端となったフィンランドでの軽症肺炎の流行をはじめ、北欧各国で流行の報告がみられる。我々も1989年に関連養護施設内での流行と思われた例を報告しているが、呼吸器症状を有した症例の約20%で血清学的に*C. pneumoniae*の関与が示唆された。

<臨床像>これまでに抗原の直接の証明や血清学的診断で、*C. pneumoniae*急性感染症として27例を検討し得た。肺炎が11例で、急性上気道炎1例、気管支炎12例、び慢性汎細気管支炎と気管支拡張症の急性増悪が各1例、胸膜炎が1例であった。初発症状としては乾性咳嗽が最も多く、次いで咽頭痛や湿性咳嗽もみられたが本症に特徴的な症状は乏しい。ただし1か月以上にわたる乾性咳嗽が約1/4の症例でみられたことから、遷延する乾性咳嗽は、本症を疑うポイントのひとつと考えている。38°C以上の高熱を呈するものはこれまで当科で経験したオウム病症例に比べて少な

く、症状は比較的軽度であった。基礎疾患では1/3の症例で何らかの慢性呼吸器疾患を有しており、ある程度当科の特殊性も影響していると考えられたが、慢性閉塞性肺疾患: COPDの急性増悪での関与を指摘する報告もあり、実際、今回DPBの1例がこれに相当していた。今後、慢性気道感染の増悪因子のひとつとして*C. pneumoniae*の関与は無視できないものと思われる。

検査所見では中等度以上の白血球増多は約1/4にみられたのみであったが、血沈は多くは亢進しており、CRPは陰性から高度上昇まで様々であった。

肺炎11例での当初の胸部X線の性状は、濃厚で不均等な浸潤影が6例、淡い浸潤影が4例で、1例が陰影の吸収が不良な器質化肺炎であった。部位は8例が区域性で孤立性陰影でしたが、両側に広がるものも含めて、2か所以上に陰影を認めたものが3例あった。

本症の実態解明にはその診断法が重要となるが、特に分離はその病態を明らかにする上で欠かせない。しかし、実際には非常に困難で、これまで本邦で*C. pneumoniae*を分離し得たとされる報告はわずかに2、3の施設に限られている。ただ、これまで分離に用いていたHeLa 229細胞に比べ、より感受性の優れたHL細胞が最近入手可能となり、今後は分離例の報告も序々にふえていくものと思われる。しかし、今後もおそらく検査室レベルでの分離はまず難しく、したがって抗原の直接証明法や血清抗体価測定はますます重要となる。より簡便で特異性の高い検査法の開発が早急に望まれる。

<治療>クラミジアに対しては十分有効な抗菌剤があり、また現在のところ耐性は認められていない。各種抗菌剤のクラミジアに対するMICは3種の間でほとんど差はなく、テトラサイクリン系のミノサイクリン、ドキシサイクリンや、ニューマクロライドのクラリスロマイシンはほぼ同等のMIC値で優れている。ロキタマイシンもかなり良好である。ニューキノロン剤ではオフロキサシン以降のものは、MIC値も良好で、効果が期待できる。

治療は、成人ではテトラサイクリン系、ニューマクロライド、一部を除くニューキノロン系のいずれも有効と思われる。投与期間は再発を考え約2週間とやや長めにしたほうが良い。小児や妊婦ではマクロライド剤が第一選択剤となる。一方、アミノ酸糖体やβ-ラクタム系の薬剤は無効で、ことに一般に使用されている抗菌剤の約60%をβ-ラクタム剤がしめる現状では、これらを使用して無効な場合などでは非細菌性の病原体のひとつとして*C. pneumoniae*を考慮にい

れた対応をする必要がある。

*C. pneumoniae*感染症は通常軽症で、中には自然治癒例もかなり存在することが予想されるが、一方、老人やcompromised hostでは重症化もみられ、まれながら死亡例も報告されていることからやはり注意すべきと考える。

またさらに本症は呼吸器感染症のみならず心疾患や全身疾患との関連を示唆する報告もみられているが、一方、その伝播様式や発症機序、さらに潜伏感染などについてはまだ詳細はほとんど不明といってもよく、これらを含め解明すべき点は多く残されている。今後、*C. pneumoniae*感染症についての多方面にわたる研究の発展を期待したい。

特別講演 (IV)

真菌症の治療指針

—*in vitro* および *in vivo* 効果の検討—

河野 茂

長崎大学医学部第二内科

深在性真菌症の増加に伴い、抗真菌剤も徐々にではあるが種類も増え、その選択の基準となる薬剤感受性試験や動物モデルを用いた*in vivo*試験による検討は重要なものとなってきた。しかし、細菌感染症と異なり、*in vitro*感受性試験の標準法が確立されておらず、また、*in vitro*と*in vivo*の結果に解離があることが知られており、抗真菌剤の選択に苦慮することも多い。本講演では、酵母状真菌および糸状菌における薬剤感受性試験法の検討と動物を用いた治療実験、さらには臨床における治療効果について検討したので報告致す。

1. 薬剤感受性試験

試験管内感受性試験は、各種の抗真菌剤の抗真菌活性を十分な信頼性をもって比較可能で、*in vivo*活性と良好な相関を示し、耐性真菌の発現をモニターし、臨床効果を予測できることが理想である。*In vitro*の感受性試験として、液体培地を用いる試験管および微量液体希釈法や寒天培地を用いる寒天平板希釈法、さらにはディスク拡散法などがある。しかし、接種菌量やその調整法、培地のpH、培養時間と温度などにより、真菌の発育速度が変わるため、結果が変動し、標準法が設定できない。また、最小発育阻止濃度(MIC)を決定するエンドポイントの判定が困難で、判定が主観的になったり、抗真菌剤の溶解性や安定性などが一定しないこともその要因となっている。

A. 酵母状真菌

a. 寒天平板希釈法

アムホテリシンBとフルシトシンの薬剤感受性を、pH 7.0のPBSに溶解した yeast morphology agar を用いた寒天平板希釈法により測定した。測定条件は、接種菌量 10^6 cfu/ml、培養時間 48 時間、培養温度 30°C が適切であった。この測定法では、アムホテリシンBは *C. albicans* や *C. glabrata* に対して全株 $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で発育を抑制し、良好な感受性を示した。一方、5 FC は *C. tropicalis* や *C. parapsilosis* に対し全株 $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以下と良好な感受性を示したが、*C. albicans* や *C. glabrata* の一部に対しては低感受性であった。

b. 微量液体希釈法

アゾール系抗真菌剤の感受性は寒天平板希釈法では低いため、半流動の semisolid SAAMF 培地で、 30°C で 48 時間培養を行う微量液体希釈法により測定した。フルコナゾールの MIC 値は *C. krusei* や *C. albicans* では高く、*C. albicans* では感受性株と非感受性株の二峰性分布が見られた。ミコナゾールはカンジダ属全般に強い抗菌活性を示したが、*C. parapsilosis* は一部に非感受性株が見られた。*Cryptococcus neoformans* に対するアゾール系抗真菌剤の感受性では、MIC はイトラコナゾールが最も優れ、ついでミコナゾール、フルコナゾールの順であった。

NCCLS では抗真菌剤感受性試験小委員会により、標準法の作成を目指しており、酵母状真菌では液体培地希釈法により、RPMI-1640 を用い、菌量は分光光度計で調整し、アムホテリシンBや5 FCで薬剤ごとの培養条件を設定しており、今後の方向を示唆する興味深い報告である。

B. 糸状菌

糸状菌の MIC の測定はより困難で、標準となるものはない。アスペルギルスの分生子 10^6 個を改変 yeast morphology 液体培地に接種し、 30°C で 24 時間 70 度で傾けながら振盪培養後、MIC を測定した。コントロールの菌糸が液体培地の約 1/3 以上の発育を確認し判定したが、エンドポイントの決定がきわめて容易であった。本法では、イトラコナゾールの感受性は MIC $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下と最も優れ、次いでアムホテリシンB $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以下、ミコナゾール $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以下の順であった。

C. 併用効果

日和見感染症として発症する深在性真菌症に対して、抗真菌剤の併用療法がしばしば行われる。試験管内の併用効果は、FIC index を算出して判定される

が、カンジダ属 5 菌種 25 株の併用効果の検討では、アムホテリシンBとフルコナゾールの併用で相乗、相加効果が約 45% の株で見られ、不関を合わせて 80% と最も優れた効果を示した。クリプトコックスに対する併用効果は従来よりアムホテリシンBと5 FCに相乗効果が認められているが、*C. neoformans* 8 株に対する検討では、一般に拮抗作用との報告が多いアムホテリシンBとミコナゾールで相加効果が見られ、また5 FCとフルコナゾールでは相乗効果が見られた。アルベルギルス属に対しては併用では、1 菌株だけの結果であるが、アムホテリシンBとフルコナゾールで相乗効果が、イトラコナゾールとミコナゾールやフルコナゾールとの組合せで相加効果が見られた。

2. *In vivo* 感受性試験

動物モデルを用いた *in vivo* の感受性試験の条件として、一定の菌量を接種することによりヒトの感染症に類似した病態を再現性をもって作成でき、種々の生体防御能を考慮にいれても抗菌活性や治療のタイミングを評価できるモデルが望まれている。*In vivo* では抗真菌剤の代謝安定性、体内動態や蛋白結合率、宿主の生体防御能などがその効果に大きく影響し、*in vitro* で反映しない抗真菌剤の毒性や代謝産物の抗菌活性などの総合的作用が見られる。

カンジダ血症および播種性カンジダ症のモデルは *C. albicans* を 10^7 cfu 尾静脈より静注することにより比較的簡単に作成できる。Allenらは、このようなマウスカンジダ症モデルを用いて、*in vitro* の抗菌活性の劣っていたフルコナゾールの *in vivo* 活性の検討を行い、その ED₅₀ は MIC から予測される以上の優れた値を示し、両者間に大きな解離がみられた。肺クリプトコックス症のモデルはマウスに経気管的に *Cryptococcus neoformans* を約 10^6 cfu 接種することにより作成した。ラットのアスペルギルス肺炎モデルは二木らの方法に従い、低蛋白食やステロイド投与により compromised host の状態にしたラットに、*A. fumigatus* の分生子 8×10^4 を経気管的に注入し作成した。感染後 1 週間の治療を行ったが、アムホテリシンB 1.5 mg/kg 単独投与群が最も優れ、ついで5 FC 100 mg/kg との併用群が優れた効果を示し、フルコナゾール 100 mg/kg 単独投与群ではやや劣る結果が得られた。

以上のように *in vivo* モデルは、*in vitro* の結果を評価する上できわめて重要な検査法であるが、ヒト感染症との相違点、すなわち感染症の経過や重症度が異なることがある、同一病原体でも宿主により病原性が異なることがある、体内動態がヒトと動物で異なるな

どを十分加味して、評価しなければならない。

3. 臨床例と抗真菌剤の効果

A. カンジダ血症

血液からカンジダ属が分離され、MICが測定された10症例で、有効な8症例はすべてMICが6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。一方、無効の1例は、MICは3.13 $\mu\text{g/ml}$ と低いものの、IVHが抜去できず無効で、他の一例はMICが100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し無効であった。このようにMICが参考になる例を、Powderlyらも骨髓移植患者に発症したカンジダ血症で検討し、アムホテリシンBのMIC値0.8 $\mu\text{g/ml}$ をブレイクポイントとして生存率が変化すると報告した。

B. 肺クリプトコックス症

肺クリプトコックス症40例における臨床的検討では、基礎疾患のない原発性21例では全例に有効以上の効果を認め、基礎疾患を伴った続発性19例では、約半数に不変および悪化の無効例が見られた。肺クリプトコックス症の治療は基礎疾患の有無や生体防御能に大きく影響されていることが推定された。*Cryptococcus neoformans*の治療薬に対するMICが測定できた6症例では、フルコナゾールで特にMIC値が25や50 $\mu\text{g/ml}$ と高い症例でも治癒や軽快例があり、逆にMICが低いにも関わらず悪化した症例があり、やはり基礎疾患の重症度が大きく影響しているようであった。

C. アスペルギローマ

アスペルギローマの内科的治療では、全身投与よりも局所療法が勧められている。菌球の存在する空洞の誘導気管支を通して、経気管支的に抗真菌剤を注入したり、経皮的に空洞内へチューブを透視下に挿入し、抗真菌剤を注入する治療法が行われる。

菌球が50%以上の縮小率を示したアスペルギローマの有効3例は、アムホテリシンBなどの経気管支や経皮的注入により改善し、すべて菌球形成から治療開始まで4か月以内の新しい症例であった。効果不良の6例では、アムホテリシンBのMICは0.1 $\mu\text{g/ml}$ と良好であったが、治療開始までの期間が平均48か月と古い症例であった。治療時間と治療効果が密接に関連しているものと思われた。

4. Drug delivery system (DDS) を利用した将来の治療法

アムホテリシンBは古い抗真菌剤であるにもかかわらず、依然 *in vitro* および *in vivo* の感受性は優れ、副作用の問題を解決できれば、さらに有用な薬剤と思われる。リポソーム封入アムホテリシンBはすでに欧米では臨床検討がなされている。その *in vitro* 感受

性でも Inhibitory concentration 99% (IC99) は、*C. krusei* を除いて、リポソーム封入アムホテリシンBが1管から4管優れていた。急性毒性の軽減効果も、リポソーム封入アムホテリシンBのそれは25 mg/kgと約12倍の毒性軽減効果が見られた。体内動態でも、網内系臓器である肝臓や肺に長時間分布しており、これらの臓器のターゲティングとして有用であることが示唆された。*C. albicans* を 1×10^7 cfu 尾静脈より静注したマウスカンジダ症で一度だけ抗真菌剤を投与した後の生存率では、アムホテリシンB 1 mg/kg 投与群では1か月の生存率は30%であったが、リポソーム封入アムホテリシンB 12.5 mg/kg 投与群では全例生存し、優れた効果が確認された。

このようにリポソーム化されたアムホテリシンBはきわめて優れた効果を *in vivo* では示しており、本邦における早い臨床的検討が待たれている。

おわりに

抗真菌剤の *in vitro* 感受性の標準法の開発が強く望まれている。現時点では薬剤や真菌の種類により条件が異なるが、NCCLSなどの方法を参考に改良がなされて行くものと思われる。また、併用療法の効果についても今後の検討が待たれている。*In vivo* の感受性試験は *in vitro* より総合的に判定できるが、日常に臨床検査としては用いられない。臨床的な検討では、疾患別別の病態が治療効果に大きく影響しているようである。今後新しい抗真菌剤の開発やDDSを利用した新しい製剤の検討などが期待されています。

特別講演 (V)

呼吸器感染症におけるBRM療法

重野芳輝

琉球大学第一内科

感染防御能の低下した患者においては抗菌薬療法のみでは治療効果が不十分な症例が多く、生体の防御能を高める治療法が必要とされる。生体の免疫を含めた応答力を変化させ疾患を治癒に導く薬物または方法である biological response modifiers (BRM) 療法が感染症の分野でも試みられているが、特に呼吸器感染症を中心として、各種サイトカイン類および生体成分移入の1つとしての抗原特異的感作リンパ球の移入(養子免疫療法)について検討を行った。

I. 各種サイトカイン類

1) コロニー刺激因子 (CSF)

(a) 好中球減少時の細菌感染症に対する G-CSF の

効果: CSF には multi, GM, G, M の4種があり, G と M がすでに市販されたが, 感染症に対する適応はまだとれていない。しかし, 好中球の減少した際の感染症において G-CSF は最も期待されるものであり, 好中球減少時に増悪した緑膿菌感染症の症例に対する効果を呈示した。

次に現在臨床で最も問題とされている MRSA 感染症について, マウス MRSA 肺炎実験モデルの作成を試み, G-CSF およびバンコマイシンの併用効果について検討した。SPF の BALB/c マウスにサイクロフォスファミド処理後, 好中球が最も減少した4日目に再度処理し, 同時に留置針による気管内挿管接種にて臨床分離 MRSA を投与して MRSA 肺炎モデルを作成し, G-CSF 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 皮下注にて6日間治療した。G-CSF 単独にてもコントロール群に比しすぐれた効果が得られ, さらにバンコマイシンのヒト常用投与量にて明らかな G-CSF との併用効果が認められた。

(b) カンジダ症に対する G-CSF の効果: その感染防御能に好中球の関与がある程度考えられるカンジダ症における G-CSF の臨床的有用性を検討した。3例のカンジダ血症および2例の口腔内カンジダ症について, 抗真菌剤の投与はそのまま継続しながら G-CSF のみを追加する形でその効果をみた。カンジダ血症ではその効果判定が今一つ明らかではなかったが, AIDS および慢性皮フ粘膜カンジダ症に合併した難治性の口腔内～食道カンジダ症では, いずれもかなり有効な成績であった。

(c) レジオネラ症に対する M-, G-CSF の効果: 細胞内増殖菌の代表としてのレジオネラについて, M- および G-CSF の効果をモルモット肺炎実験モデルにおいて検討した。

ヒト尿由来 M-CSF をモルモット腹腔内投与の末梢白血球分画は, 単球, リンパ球の増加にやや遅れて好中球も増加した。菌と非感染モルモットの肺胞マクロファージおよび M-CSF を混合して *in vitro* での反応をみたが, コントロール群に比べ M-CSF 投与群において明らかに菌の増殖が抑制された。さらに抗菌力は比較的良好ながら細胞内移行が不良のため効果の得られないセフトジグタイムを用いて M-CSF との併用効果をみたが, M-CSF の大量前投与後治療群においてすぐれた併用効果が得られた。

さらにレジオネラ感染初期に十分な好中球を肺胞内で作用させればその殺菌力により感染菌量を減少させ, 有効に作用することが考えられ, 感染初期に G-CSF を投与することでの効果をみた。G-CSF 大量皮下

注後, 末梢血では好中球のみが著増し, また肺炎モデルの BAL 液でも経時的な好中球の減少が G-CSF 群でよりゆるやかであった。感染後の肺内菌数の推移でも抗生剤と G-CSF の併用群が最も菌の増殖を抑え, さらに肺炎実験モデルの治療でもすぐれた併用効果が得られた。

2) インターロイキン-2 (IL-2)

レジオネラ敗血症および肺炎実験モデルで IL-1 はほとんど効果がみられなかったが, IL-2 はセフピロームとの併用にてすぐれた併用効果が認められた。

3) インターフェロン- γ (IFN- γ)

細菌以外の細胞生免疫能が重要な役割を果たすとされるニューモシスチス・カリニについてラット肺炎実験モデルを作成し, *in vitro* および *in vivo* におけるインターフェロン- γ の効果について検討を行った。抗原は, 潜伏感染のあるコンベンショナルラットにステロイド筋注にて重症カリニ肺炎を惹起させ, その肺からとりだしたカリニ虫体を用い, SPF ラットにステロイド経口投与後4日目に気管内へカリニ抗原を接種した。経時的に屠殺して肺組織をトルイジンブルーO染色にて観察したが, 肺胞内に虫体が徐々に増加し, 肺胞腔が狭少化していく像が観察された。

In vitro において感染および非感染ラットの脾細胞浮遊液とカリニ浮遊液および IFN- γ を混合培養してカリニに対する IFN- γ の効果を観察した。非感作群と比較すると感作ラット脾細胞群でより減少傾向を示し, また両群ともに IFN- γ の無添加, 1単位添加, 100単位添加と増量することで明らかにシスト数の減少を認め, IFN- γ がカリニに対し有効であることが確認された。

次にカリニ肺炎モデルにおける IFN- γ の治療効果について検討した。第1群(コントロール):ステロイドの経口投与を継続しながら5週目より生食静注投与した群, 第2群:同じくステロイド継続投与しながら IFN- γ 静注にて1週間治療した群, 第3群:ステロイドを5週目で中止し, IFN- γ の静注1週間治療群とし, 6週目に屠殺して肺のスタンプ標本, 切片標本を作成し, 前者では1,000倍, 50視野中のシスト数, 後者では100肺胞中のカリニ陽性肺胞の割合を観察した。IFN- γ の使用によりカリニ虫体の減少を認め, またステロイドの中止によりその効果はさらに著明であった。

II. 抗原特異的感作リンパ球の移入(特異的養子免疫療法)

養子免疫療法とは, 自己の免疫担当細胞を体外にて賦活させ, 再びもとの体内へ移入する治療法であり,

特に悪性腫瘍において近年広く用いられるようになってきた。この方法を感染症に応用し、末梢血よりリンパ球層を回収し、*in vitro*にて標的抗原による感作を行い、さらにIL-2を用いて抗原特異的感作リンパ球を増殖させ、その後回収し、再び元の生体内へ戻す本治療法の基礎的・臨床的検討を行った。

1) 多剤耐性肺結核症に対する効果

健康成人のリンパ球の各サブセットをモノクローナル抗体を用いて除去し、患者由来結核死菌で刺激して、リンパ球増殖反応 (^3H -thymidine uptake), IFN- γ , TNF- α の測定を行ったが、いずれもリンパ球と抗原を反応させることでリンパ球増殖反応, INF- γ , TNF- α の産生が明らかに認められ、しかもその反応がいずれもCD4細胞が担っていることが明らかにされた。この成績は結核死菌抗原のほか、PPD抗原を用いた検討でも同様であった。さらに健康成人19人について行った検討では、結核死菌抗原刺激によるリンパ球増殖反応とIFN- γ , TNF- α 産生とがそれぞれ2群間にいずれも有意に正の相関があることが明らかにされた。

これらの基礎データをもとに、32歳男性、再発した多剤耐性の持続排菌結核患者で、急激な全身状態、胸部X線像が悪化し、死の危険が考えられた症例において本療法を試みた。本患者はツ反応中等度陽性、IL-2の反応およびreceptor、産生能などは正常、好中球機能正常で、細胞性免疫能のうちリンパ球幼若化反応が低下していた。患者の末梢血リンパ球は、患者とほぼ同程度のツ反応を示す健康成人コントロールと比べ、各種抗原に対するリンパ球幼若化反応において、特異的なヒト結核菌、PPDに対する反応だけでなく、非特異的なPHAに対しても低下していたことから、体外にて標的抗原による感作の必要性が確認された。培養に加えるIL-2量や反応時間などの基礎的検討のち治療にふみきった。副作用として反応性の発熱、一過性の低酸素血症がみられるものの対症的な処置でこれまで計18回のリンパ球移入を行った。移入後喀痰の抗酸菌染色では、投与前食細胞に貪食されていなかった結核菌が、2日目には所々に好中球に貪食され、6日目には好中球にかわって単核球の増加とあちこちに貪食像が観察された。排菌量、炎症反応、胸部X線像などいずれも改善はみられないが、一時的な症状の改善、菌貪食に伴う一時的な菌減少、急激に広がった粟粒影の減少など、生体は十分な反応を示し、このまま放置すれば死の転帰をとるものと思われた本例の急激な増悪を抑え小康状態を保っており、ある程度有効であったものと判断している。

2) 難治性緑膿菌慢性気道感染症に対する効果

マウス脾細胞と緑膿菌菌体抗原を用いたリンパ球幼若化反応でも、抗原非感作リンパ球に比べ感作群でより強い反応がみられた。本療法を難治性緑膿菌慢性気道感染症例に応用した。症例は61歳男性。気管支拡張症にて在宅酸素療法中で1日約150~300mlの喀痰から持続的に緑膿菌が純培養状に検出されていたが、再度感染後呼吸不全にて他院へ入院し、EM療法にても十分なコントロールが得られないとして紹介された。副作用として投与後微熱を認める以外特になく、これまで3回の注入にて、現在痰の膿性度の軽度改善、血液ガス所見の軽度改善、グラム染色像での菌貪食像の増加などの効果が得られており、菌消失にはいたっていないがある程度有効性が期待されるものとして、今後長期にかつより多量のリンパ球の移入と、EM療法や γ グロブリン製剤の長期間歇投与などの併用などを組み合わせた治療を考慮中である。

以上、呼吸器感染症を中心としたBRM療法についての教室の成績を中心に報告した。BRM療法は、今後抗菌薬との併用によって感染症治療において非常に期待される治療法であろう。

会 長 講 演

院内肺炎の実態と化学療法

那須 勝

大分医科大学第二内科

院内肺炎すなわちnosocomial pneumoniaは、入院患者のなかでは、尿路感染、術後感染とならんでその発生頻度が高い。院内肺炎の定義として、CDCやnational nosocomial infection study (NNIS)による調査報告では、入院時は肺炎を認めないが、48~72時間以降に発症した肺炎をnosocomial pneumoniaとしているので、今回のような定義に基づいて、我々の内科における1981年より90年までの約10年間の院内肺炎の実態について検討し、その結果を示し、その診断法と化学療法についても考察を加えた。

総入院患者3,694名のうち、臨床診断の下でnosocomial pneumoniaと診断した症例の割合は、2.19%であった。この割合は、基礎疾患の種類によって大きく異なっており、血液疾患では8.7%、なかでも白血病、成人T細胞白血病(ATL)はそれぞれ11.8%、14.8%の罹患率、循環器疾患や消化器系疾患では、0.4から0.7%であった。米国における調査(NNIS, 1984年)では、teaching hospitalでは

1,000人に3.8から7人と報告されているので、これより少し多い成績であった。さらに、死亡退院した312例について、いわゆる末期肺炎を含めて剖検診断からみても、この頻度はさらに高く、45%は肺炎を伴っていて、血液疾患、呼吸器疾患を基礎にもつ患者は、それぞれ62%、58%、肝癌、消化管癌などの固形癌の患者はやや少なく27%が肺炎を伴っていた。

死亡退院例におけるNosocomial pneumonia例(139例)とそうでない例(173例)について、その宿主因子を比較検討した。入院期間は、肺炎例は平均 82 ± 74 日、肺炎でない例は平均 64 ± 62 日で有意に肺炎例に入院期間が長い傾向があった($p < 0.05$)。副腎皮質ホルモン剤と抗癌剤の使用例は、これらを使用されていない症例に比べて、肺炎発症はそれぞれ有意に多い傾向にあり($p < 0.01$, χ^2 テスト)、放射線療法を受けた症例、HTLV-1抗体陽性例では、その差はみられなかった。数種のパラメーターの比較検討では、血清総蛋白と γ -グロブリンは、肺炎例に有意に低く($p < 0.05$)、末梢白血球数と分画では、リンパ球数が院内肺炎発症例に有意に低い傾向があった($p < 0.05$)。Nosocomial pneumoniaを発症した139例について、入院時と肺炎発症時の検査結果の比較では、肺炎発症時は、血清蛋白、アルブミン、グロブリンは有意に低く($p < 0.01$)、リンパ球数も低下していた($p < 0.05$)。

さらに、病原体別に剖検例について検討した。末期には血清蛋白とアルブミンは全般に低下しており、液性免疫能のパラメーターとなる γ -グロブリンは、感染(-)群に比べて、カンジダ肺炎、混合感染、サイトメガロウイルス(CMV)肺炎にて有意に低下し($p < 0.01 \sim 0.05$)、IgGはCMV肺炎にて有意に低下していた($p < 0.01$)。末梢血顆粒球数は、かなりバラツキがみられ、真菌感染群で少ない傾向がみられ、細菌感染例はむしろ高値をとっていた($p < 0.05$)。リンパ球数は真菌感染、サイトメガロウイルス肺炎にて低くなっていた。

Nosocomial pneumoniaの起炎菌は、臨床的に決定した起炎菌と剖検時に採取した肺穿刺液からの分離菌から決定した。緑膿菌、アスペルギルス、カンジダ等の真菌、*Enterobacter*、糖非発酵グラム陰性桿菌などがあげられ、さらにCMVをはじめとするヘルペス属ウイルス群が回帰発症し、このような病原体が単一菌感染または複数菌感染としてnosocomial pneumoniaの起炎菌となっていた。これらの病原体を、1980年代前半と後半について比較した。この10数年の間

に優れた抗菌剤が臨床に登場し、分離菌の推移は大きく変わっているが、黄色ブドウ球菌、腸球菌などのグラム陽性菌の検出率が高く、MRSAも分離され、大腸菌、*Klebsiella*などの腸内細胞は減少し、また緑膿菌は、1970年代に比べ、1980年代の後半では減少していた。これらは、優れた抗緑膿菌性抗生物質やニューキノロン剤の登場が大きく影響を与えているものと考えられた。

院内肺炎の主な起炎菌となるグラム陰性桿菌とMRSAに対する最近開発された抗菌活性の検討では、大腸菌、*Klebsiella*に対しては、ほぼこれらの新しい薬剤は満足すべき抗菌力をもっており、緑膿菌や*Enterobacter*にもかなり強い抗菌力をもっていた。MRSAには、バンコマイシンやテイコプラニンが優れていて、これらの院内肺炎にきわめて期待される薬剤であると思われた。

以下、ATLに合併したCMV肺炎に対してganciclovirとG-CSFの投与にて軽快した症例、急性リンパ性白血病(ALL)に合併したアスペルギルスによる“mycotic lung sequestrum”の臨床経過とアスペルギルスの抗原診断法、 β -ラクタム剤陰性肺炎球菌による院内肺炎例と、耐性肺炎球菌のPBPの変化を呈示し、G-CSFの有用性、DNA診断法について考察した。

Nosocomial pneumoniaの発症予防はきわめて重要であるが、その早期診断と早期治療、適正な化学療法、および今後は優れた抗真菌剤、抗ウイルス剤の開発とBRM療法の進歩が望まれる。

シンポジウム (I): 経口抗菌薬の適応の限界と将来への展望

司会のことば

大井好忠

鹿児島大泌尿器科

澤江義郎

九州大医療短大

経口抗菌薬は現在のところ、軽症ないし中等症の外來で治療可能な症例、または注射薬投与により改善した入院症例の継続療法として用いられ、腸管感染症も適応疾患となる。しかし、重症感染症、難治性感染症では経口抗菌薬が使用されることはないであろう。本シンポジウムでは、現状において最も繁用されているセフェム系薬とニュー・キノロン薬を中心として、細菌学的立場から経口抗菌薬の適応拡大の可能性、臨床