菌交代症の成立機序に関する研究

第II報 実験的カンジダ症における腸内細菌群の変動に及ぼす抗生物質並びに副腎皮質ホルモンの影響

米 倉 幸 夫

東京大学医学部細菌学教室（指導 秋葉朝一郎教授）

前報¹⁾において筆者は菌交代症成立機序について、Cortisone（以下 Co. と略す）投與による真菌の感染促進を主として、腸内細菌群の変動の立場より検討し、かつ菌交代症を実験的に成立せしめることを証明した。

本文においては抗真菌性抗生物質投與によつて、Co. 処置マウスにおいて菌交代症がどのように成立しているかを、やはり接種菌並びに腸内細菌群の変動に及ぼす影響から検討して、若干の知見をえたので報告する。

菌交代症として最も頻度の多い、カンジダ症の原因菌である *Candida* 属、特に *Candida albicans*（以下 *C. alb.* と略す）であるとされている。*Candida* は健康人の口腔、消化管、膣等にかかなり高率にみられる常在菌であるが、penicillin, streptomycin 等の抗生物質に不感性であつて、それらによつて増殖を促進せしめられるとの報告もあり、これに対しては烈しい反駁もあるが、秋葉、岩田^{2,3)}（1954, 1955）は penicillin, streptomycin, aureomycin の3種の抗生物質の *C. alb.* の発育に及ぼす影響を光電比色計並びに集落計算によつて検討した結果、少くとも血中濃度の範囲内では全く影響のないことを確認しており、またマウスを使用してこれに aureomycin, streptomycin, chloromycetin, penicillin 等の抗生物質及び thiasin を *C. alb.* 接種前後に連続投與して、マウスのカンジダ感染に及ぼす影響について述べたが、抗生物質の投與によつてマウスの *C. alb.* 感染が助長されるという明確な所見はえられなかつたと報告

した。

著者は Cortisone 処置による *C. alb.* 感染マウスに *streptomyces noursei* からえられた抗生物質である Nystatin（或いは Mycostatin）を投與した場合の主として腸内細菌群の変動より、菌交代症の発生機序に関して検討をこころみ若干の知見をえたので報告する。

実 験

試獣：傳研 dd 系マウス、生後4週の雄、体重16~17gを使用し、固型飼料（実験動物中央研究所 飼育用）で飼育した。1群10匹とし、8群について実験した。

使用菌株：*Candida albicans* Duke #1株（肺カンジダ症患者の痰より分離、以下 *C. alb.* と略す）

薬剤の投与方法：Nystatin（三共製薬）、力價2900 u/mg を使用した。その10γ/mouse, 20γ/mouse を菌接種1時間、6時間、24時間及び48時間後の4回腹腔内に反復投與した。Nystatin は formamide を1 mg/ml の割合に加え、スパーテルによつて器壁ですりつぶし、50℃の温湯中で靜かに溶解せしめ、それを原液としてpH 6.0の phosphate buffer で20倍以上に稀釋した溶液を実験に供した。

Cortisone の投与方法：Cortisone acetate（Merck & Co. INC, 以下 Co. と略す）の0.3~1.0mgの種々の量をマウス頸部皮下に、菌接種前24時間、接種後24時間、72時間の3回反復注射した。

菌接種方法：*Candida albicans* Duke #1株を、Sabouraud 寒天培地に25℃7日間培養し、滅菌生理食塩液で均等な浮游液をつくり、孢子数を計算した後腹腔内に 1×10^8 /ml 接種した。

接種菌並びに腸内細菌群の培養：前報記載の通り。

臓器病変部の培養：無菌的に胸廓、腹腔を開き、心血1~3白金耳を Sabouraud 寒天培地、血液寒天培地、普通寒天培地に移植培養する他に、各臓器組織において肉眼的に病変部位と思われる部分を剖面培養、或いは滅

Yukio YONEKURA: Studies on the Mechanism of Microbial Superinfections, Report II. Influence of Antibiotics and Corticosteroids on the Fluctuation of Intestinal Microbial Flora in Experimental Candidiasis, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo—Japan. J. Med. Mycol., 1, 1960.

菌乳鉢でよく磨碎し、その1～2白金耳量を培養し、同時に直接塗抹標本を鏡検した。

結 果

〔I〕体重16～18gのマウス、1群10匹とし、40匹を使用した。上述の如く *C. alb.* の孢子 $6.6 \times 10^8/\text{ml}$ をマウス腹腔内に接種し、Cortisone 1回量 0.5mgを菌接種前24時間、接種後24時間及び72時間の3回計 1.5mgを頸部皮下に注射し、Nystatin 10 γ /mouseを菌接種後1時間、6時間、24時間、48時間の4回総量40 γ /mouseを腹腔内に投与した。

a) 死亡率：Cortisone 処置感染群においては極めて高い死亡率を示した。Cortisone 処置抗生物質投与群では抗生物質投与感染群に比較して、逆に低い死亡率を示

図1. *C. albicans* のマウス感染に及ぼす Cortisone, Nystatin の影響

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3), Nystatin 40 γ (10 γ $\times$ 4)

図2. Cortisone, Nystatin 処置 *C. albicans* 腹腔感染による体重増減率

した(図1参照)。

b) 体重の消長：Co. 処置感染群、Nystatin 投与感染群は対照群 *C. alb.* 感染群に比較して、いずれも体重の減少がみられた。Co. 処置群は Nystatin 投与群よりも減少が著しく、7～8週にいたり交代菌の出現が認められる頃に、再び体重の減少が著しくなった。Nystatin 投与群では菌接種後10日目頃、一時的に体重の減少がみられたが、その程度は軽度で回復も早く、対照群にある程度平行的に増加していった(図2参照)。

c) 腸内細菌群の変動：球菌類は感染の初期に増加を示したが、その程度は Co. 処置感染群に最も著しく、*Candida* 単独感染群に軽度、Nystatin 投与感染群においてはほとんど変動が認められなかった。これに対し

図3. *Candida albicans* マウス感染による Cortisone, Nystatin の影響

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3), Nystatin 40 γ (10 γ $\times$ 4)

図4. Cort. 並びに Nyst. 処置 *C. alb.* 感染による出現菌の状況

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3) Nystatin 40 γ (10 γ $\times$ 4)

桿菌類は全く逆比例的に減少した。その後球菌類は接種せられた *Candida* の減少とともに減少し、桿菌類は逆に増加していった。7～8週にいたり交代菌の出現とそ

の急速な増加にともない、球菌類は再び著しく増加し、桿菌類は減少した(図3参照)。

d) 接種菌の腸内出現状態: 接種菌の腸内出現の状態は、接種後5日目に最大となり、その後徐々に減少したが、7~8週にいたり、再び出現菌数が著増した。Nystatin 投与感染群においては、接種菌の増殖が抑制され、出現菌数も少く、定着日数も短かった。Co. 処置感染群においては、Co. 処置抗生物質投与群に比較して出現菌数多く、死亡率高く、病変も強度であつた(図4参照)。

〔II〕マウス生後4週の雄、平均体重17.0g、1群10匹とし80匹使用した。C. alb. 絶対の孢子数 1.4×10^8 /mlを腹腔内に接種し、Co. 1回量0.5mgを菌接種前24時間、接種後24時間及び72時間の3回頸部皮下に注射した。Nystatin は20 γ /mouseを菌接種後1時間、6時間、24時間、48時間の4回、総量80 γ /mouseを腹腔内に投与した。

図5. *Candida albicans* のマウス感染に及ぼす Cortisone, Nystatin の影響

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3) Nystatin80 γ (20 γ $\times$ 4)

a) 死亡率: Co. 処置感染群においては、Co. 処置抗生物質投与群及び抗生物質投与群に比較してより高い死亡率を示した。Nystatin 投与感染群では接種菌の増殖が抑制され、その死亡率が低く、前実験とは逆の傾向を示した(図5参照)。

b) 腸内細菌群の変動: グラム陽性球菌類、グラム陰性桿菌類の感染経過中における量的消長は、前実験と同様の傾向を示し、交代菌の消長との関係も同様であつ

図6. *Candida albicans* マウス感染による Cortisone, Nystatin の影響

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3), Nystatin80 γ (20 γ $\times$ 4)

図7. Cort. 並びに Nyst. 処置 C. alb. 感染による出現菌の状況

註. Cortisone 1.5mg (0.5mg $\times$ 3) Nystatin 80 γ (20 γ $\times$ 3)

図8. *Candida albicans* のマウス感染に及ぼす Cortisone 並びに Nystatin の影響

た。たゞ時期的、量的に多少の相異が認められたのにすぎなかった。即ち Nystatin 投與感染群において、グラム陽性球菌類には殆んど変動がみられず、グラム陰性桿菌類においては、菌接種後12日目頃に最も減少した。しかし Co. 処置感染群及び Co. 処置抗生物質投與感染群に比較して軽度であった(圖6参照)。

c) 接種菌の腸内出現状態: 圖7, 8に示す如く前実験と同様の傾向が認められたが、Nystatin 投與群においては、前実験のそれに比較して、接種菌の増殖が強く抑制され、病変も軽度で、死亡率も低かった(圖7, 8参照)。

d) 病理組織学的検討: Co. 処置感染群においては、病変がもつとも多くかつ強く認められ、Nystatin 投與群では、病変の数が少く軽度であった。腎にもつとも強い病変を認め、ついで肝、腸管、脾、腸管膜、心筋、横隔膜等に膿瘍形成、肺の出血性変化が多く認められた。Co. 処置群では特に結節形成がみられ、臓器の出血性変化が顯著であった。

病変組織像は Co. 処置感染群において、Co. 処置 Nystatin 併用群および Nystatin 投與感染群に比較して、より複雑であり、病変も強かった。肺臓の壊死が肺全野にまで強く及ぶことがしばしばであった。接種真菌による感染像と同時に、別な微生物による感染像がみられ、また接種菌による感染病巣が他の微生物による感染病巣によつておきかえられた像がみられた。Nystatin 投與感染群においては、以上のような複雑な感染像は少く、接種菌による感染像も、Co. 処置群の場合と比較して軽度であった。

考 察

水野等⁴⁾は *C. alb.* の腹腔内または静脈内接種マウスに、Nystatin 100mcg を腹腔内に注射したとき、腹腔内接種では効果を認めたが、静脈内接種では効果は認め難いと報告した。高橋等⁵⁾は経口的に本菌を投與したマウスに、Tetracycline を内服せしめた結果、著明にその検出期間を延長せしめたが、これに Nystatin を併用したとき、排菌期間が著しく短縮し、Tetracycline による影響を防止しえたという。人においても Nystatin の服用により、糞便内 *Candida* の減少を認め、この時 Tetracycline を併用しても同様で、Nystatin により Tetracycline の影響を防止しえたと報告した。老木⁶⁾は抗生物質投與後の糞便内 *Candida* 属検出をおこない、約64%陽性にこれを認め、抗生物質非投與群においては34%の検出率であり、抗生物質投與時における、糞

便内 *Candida* と大腸菌の消長は、大腸菌の減少した時期に *Candida* が増殖し、投與中止後大腸菌が増加すると *Candida* が減少してくると報告した。腸内細菌群に及ぼす Aureomycin の影響について、Finland 等⁷⁾はグラム陰性並びに陽性桿菌は減少し、連続投與によれば、*Proteus*, *Pseudomonas* が増加すると述べ、Dearling 等⁸⁾は大腸菌、*Aerobacter aerogenes*, 芽胞形成菌、*Bacteroides* の減少、*Proteus*, *Pseudomonas* Fungus の増加を認めた。Edmiston 等¹²⁾は腸球菌の増加を認めたと報告している。また久保⁹⁾は大腸菌群、腸球菌群の減少或いは消失、変形菌、緑膿菌、*Candida* 属酵母様真菌の増加について述べ、深沢¹⁰⁾、仲原¹¹⁾は大腸菌は減少ないし消失するが、変形菌、肺炎桿菌、ブドウ球菌は増加すると報告した。Tetracycline の影響については、Edmiston¹²⁾は大腸菌の減少は弱く、かえつて腸球菌は増加すると述べ、Sborov¹³⁾は初期には腸内菌数は減少するが、治療期間が長いと再び増加すると述べている。中西¹⁴⁾は Chloromycetin 投與による影響について、1日量 500mg~1g で大腸菌の減少と変形菌、ブドウ球菌の増加することを認めた。著者は動物実験により、*C. alb.* に Nystatin が著明に作用したことを認めた。また Nystatin 腹腔内注射 1回量20 γ /mouse (4回実施) は1回量10 γ /mouse 注射の場合より、抗真菌作用が強かったことを認めた。実験Iにおいて *C. alb.* 感染 Nystatin 投與群に更に Cortisone 処置の加わつた群の方が逆に死亡率が低く現われたのは、Cortisone のもつ抗炎症作用が発揮されたとみられるが、実験IIにおいては逆に Cortisone は感染促進的に働いており、この場合には Nystatin の投與量も異なっており、Cortisone 或いは Nystatin、更にはそれら相互の量的関係が複雑に関与するものと考えられる。

著者は *C. alb.* 感染マウスにおいて、Nystatin 投與の影響を特に Cortisone 投與による影響の関連において、腸内細菌群の変動の立場から定量的に追究して上述の如き成績をえた。即ち接種菌の増減にともなつて、グラム陽性球菌も増減し、グラム陰性桿菌はそれらとは逆比例的に増減した。このような微生物間相互の量的な消長は、生体の防衛機轉に重要な意義をもつと考えられ、特にその平衡が破れたとき、菌交代現象がおこり、更には菌交代症が成立するに至る重要な原因の1つとなると考えられる。事実著者は耐過マウスの長期観察によりその成立を確認しえた。

結 論

*Candida albicans*のマウスにおける実験的感染により、Cortisone がこれを助長する機作を主に、Nystatin を投與した場合との比較において、腸内細菌群の変動より検討し、なお Cortisone 投與によつても菌交代症が成立することを前報と同様に実験的に証明した。

1) *C. albicans* 接種後その増殖とともに、球菌類も増加し、桿菌類はこれと全く逆比例的に減少した。接種菌の減少乃至消失とともに、耐過マウス中に交代菌が出現し、その急速な増加とともに再び球菌類が増加し、桿菌類は減少する傾向を認めた。

2) Cortisone 処置 *C. alb.* 感染群においては、単独感染群に比較して、腸内細菌群の変動が著しく、接種菌の増加、体重の減少及び高い死亡率を示し、病変も顯著であつた。Nystatin 投與群では、接種菌の増殖が抑制され、定着日数短く、死亡率低く、病変も軽度であつた。接種菌の増加が少しく認められるとともに、桿菌類には変動がみられ、やや減少の傾向を示した。球菌類にはほとんど変動が認められなかつた。

3) Nystatin 40 γ /mouse 量投與群においては、80 γ /mouse 量投與群に比較して、接種菌の腸内出現菌数も多く、定着日数もやや長く、死亡率も高く、病変はいづれも軽度であつたがやや多く認められた。

4) 病理組織学的に検討した結果、Cortisone 処置感染群においては接種菌による感染像の他に、それ以外の微生物による感染像がしばしば認められたが、Nystatin 投與群においては複雑な感染像を示すことは少く、また病変も軽度であつた。

終りに御懇篤な御指導と御校閲を賜つた主任秋葉朝一

郎教授並びに岩田助教授に深甚の感謝の念を捧げます。

また病理組織学的検討において多大の御教授を頂いた東京大学伝染病研究所病理学研究部の河合清之博士に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 米倉幸夫：真菌誌，1，24，1960.
- 2) 秋葉朝一郎，岩田和夫，牛飼俊博：日本細菌学雑誌，9（5），1954.
- 3) 秋葉朝一郎，岩田和夫，井上捨巳：日本細菌学雑誌，10（6），1955.
- 4) 水野，吉元，長峰，木の上：Ibid. ser. B 11（2），55，1958.
- 5) 高橋，螺良，田中，平尾：Ibid. ser B 11（2），70，1958.
- 6) 老木：日本化学療法学会雑誌，2（5），166～170，1954.
- 7) Finland, M. et al.: Aureomycin. a new antibiotic. J.A.M.A., 138, 947, 1948. Present. studies of aureomycin therapy, Ann. Int. Med., 31, 39, 1949.
- 8) Dearling, W.H.: Miorococci enteritis as a complication of antibiotics therapy. Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.. 28, 121, 1953.
- 9) 久保郁哉：抗生物質経口投与による腸内細菌群の変動，日本細菌学雑誌，27，89，1953.
- 10) 深沢義明：日本伝染病学会雑誌，29，235，1955.
- 11) 仲原寛：日本衛用学雑誌，11，29，1956.
- 12) Edmiston, J.M., et al.: Surg. Gynee. Obst., 92, 641, 1951.
- 13) Sborov, V.M. et al.: J. Lab. Clin. Med., 37, 52, 1951.
- 14) 中西：日本伝染病学会雑誌，28(12)，690，1955.
(昭和35年1月11日受付)