臨床実験報告

放射線治療と腸内細菌叢中の耐性株出現との関係

日本医科大学 衛生学教室

高倉 剛二・庄子 忠良・岡野 順子・安藤 勝雄

Koji Takakura Tadayoshi Shoji Junko Okano Katuo Ando

林 仁雄・五味淵 政人・乗木 秀夫

Toshio Hayashi Masato Gomibuchi Hideo Noriki

日本赤十字中央病院癌研究所

松 村 義 夫

Yoshio Matumura

緒 言

抗生物質耐性赤痢菌出現機序に関しては、臨床学的立場から、落合等¹⁾の腸内細菌間の耐性因子の移行の事実が報告されてより、大腸菌株に出現した耐性因子が、侵入感受性赤痢菌に移行し、耐性赤痢菌株の出現となるのではないかとの理論が提示され、現在の流行赤痢菌株中に発見される耐性株の出現機序の解明に大きな話題となり、其の後色々な観点から検討されている^{2), 3)}。そして、現在では、耐性赤痢菌の問題は、耐性腸内細菌叢の問題となり、腸内細菌叢の耐性化、或は耐性分布が、その論議の焦点となつて来た。確かに、糞便中の大腸菌の調査に於て、耐性株の出現する頻度は、必ずしも低いとはいえず、耐性化、或は耐性変異の機会も、赤痢菌よりは多くあらうと想像出来る。

扱、耐性変異について、実際に遭遇する因子として考えられるのに、先ず各々の抗生物質が挙げられよう。抗生物質との接触が、或る条件下で、選択性或は刺激性を発揮して、耐性株の成育となるであらうことは考えられる⁴⁾。又、全くその抗生物質と関係なく、環境因子として、温熱条件もあらうし、栄養学的な条件もあらう。

例えば Demerec⁵⁾は、菌の変異誘導源として、30 数種の有機物及び無機物を採り上げ、その 10 数種に誘導源をもつていたと報告している。誘導源をもつていたものとしては、硼酸、アンモニア、硫酸銅、塩化マンガン、過酸化水素、乳酸、中性紅、アクリフラビンなど、多種多様のものが挙げられている。

又、抗生物質に対する耐性変異に関連しては、酒寄⁶⁾、淡路⁶⁾、一井等⁷⁾の胆汁酸がある。

更に、Demerec⁸⁾は、紫外線を採り上げ、この変異誘導、更に復帰変異を報告している。

これらの研究から想像すると、実際のわれわれの周囲には、多くの変異株出現条件があるようで、同様な意味で、耐性株出現も考えられる。

その一つとして、現在広く使用されている放射線、特に ^{60}Co を考えてみた。 ^{60}Co の破壊力は同時に細胞染色体の変化という問題にも関連し、分裂菌である細菌の変異に対しては、好条件と考えられるわけである。

即ち、悪性新生物治療として使用されている時、その患者の腸管内に棲息している腸内細菌叢に対しても、何等かの効果を示しているに違いない。それが、耐性株を出現させたり、又は誘導することもあるのではないかと考えた訳である。

実験方法

1. 材料

昭和 35 年 11 月、12 月、日赤中央病院癌センターに入院加療中の患者 38 名の糞便を材料とした。

表1 病名分布

病 名	例 数
子宮癌	18
胃癌	5
乳癌	4
直腸癌	2
睪丸癌	2
甲状腺癌	1
上顎癌	1
顎下腺癌	1
食道癌	1
肝癌	1
結腸癌	1
後腹膜腫瘍	1
外陰癌	1
計	38

患者の病名は、表 1 に示す通りである。

2. 検査方法

目的とする菌は、大腸菌とした。その理由は、その目標が、赤痢菌に対する態度にあるので、大腸菌群を採り上げた訳である。

まず、患者の糞便の一定量を、約 5 倍量の生理食塩水で稀釈混和し、その一白金耳量を、あらかじめ作成された抗生物質 100 r/cc 加ドリガルスキー平板培地に塗抹、37°C 48 時間培養、平板に発育した黄色の典型的な大腸菌様集落を採り出した。

抗生物質は、Streptomycin(SM)、Chloramphenicol (CM) 及び Tetracycline (TC) を使用、それぞれ単独加平板培地とした。

採取した集落は、染色検鏡によって、グラム陰性の桿菌なることを確め、IMVC-System よつて、大腸菌の同定を行った。

更に、厚生省の定めた耐性検査平板法の術式⁹⁾に従い、100 r/cc 以上の耐性度のあることをたしかめた。同一材料から出た株については、同一の大腸菌分類にあつて、同じ耐性態度を示す場合は、同一株として記録した。本材料からは、この方法では、すべて一材料一株であつた。

3. 放射線照射方法

⁶⁰Co の照射は各疾患に応じて、1 日 1 回、1~4 門照射を 150~200 r 単位行つた。装置其の他は次の如くである。

装置

島津製 ST-600 型 昭和 36 年 1 月現在 288 Curie
日立製 JI-600 C 型 " 251 Curie
(測定器 Victoreen ratio-meter 37470)

Radium は、総量約 6,000 mg を照射することにした。

レントゲン線は、表面量 1 回 300 Rentgen を必要量に応じて使用した。

実 験 成 績

1. 大腸菌型の分布

IMVC-System によつての大腸菌の分布は、表 2 の如くである。本材料からは、上記の様に、数個の集落を拾つた例もあつたが、この検査方法では、同一株とみなす例のみであつた。

表 2 大腸菌型の分布

型	E.coli I	E.coli II	中間 I	中間 II	A.aerog I	A.aerog II
株数	14	3	4	3	2	2

糞便中の大腸菌群の多種性については、すでに多くの報告¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾があるが、この患者の糞便でしかも耐性株のみの場合も、E.coli 株が 17 株 61% を占め、健康人の糞便中の大腸菌分布と似ている。

2. 抗生物質に対する耐性態度

分離培地が、CM, SM 或は TC が 100 r/cc 加培地なので、このいずれの平板にも発育を認めなかつた即ち、CM, SM 或は TC 何れにも耐性度を持つていない症例は 10 例、即ち 26.4% であつた。逆にいうと、28 例即ち 73.6% に耐性株を認めたことになる。

この率は、まことに高率で、都会地住民の 2~5%¹³⁾からみると、何か特殊条件があつたと考えることが出来る。

耐性態度は、表 3 の如くで、3 剤耐性が 67% を占め、TC・CM の 2 剤耐性、TC 1 剤耐性と続く。CM 或は SM の単剤耐性株は認めなかつた。出現度をみると、藤田¹³⁾の昭和 34 年度の糞便中の耐性大腸菌の報告より、3 剤耐性株の出現は高率だが、現在の我が国の流行赤痢菌株にみられるもの¹⁴⁾と似ている。

表 3 耐性株の耐性態度

耐 性 薬 剤	株 数
CM・SM・TC	19
CM・SM	1
CM・TC	4
SM・TC	1
CM	0
SM	0
TC	3
計	28

3. 耐性株出現度の解析

患者の治療状況を、本解析で問題となるであろう項目を中心として、個々に記録したのが表 4 である。これをみると、放射線療法のみならず、抗生物質の使用もうけている。

イ) 放射線照射と耐性株の出現との関係

⁶⁰Co, レントゲン, 又はラジウムの何れか 1 つ以上の照射治療を受けたものと、いずれも受けていないものについて、耐性株の出現状況をみると、表 5 の如くである。

この表から、使用例では 76%, 使用しない例では 66% と耐性株陽性を示しているが、この間に有意差は認め難い。

レントゲン, ラジウム例は計 6 例、5 例に陰性を示すので、一先ず例数少く陰性度が高いので、除外し

表 4 症 例 一 覧 表

No.	病 名	投 与 薬 剤 総 量						使用放射線表面総量			耐 性			癌 型
		CM	SM	TC	KM	Pc	Sulf	⁶⁰ Co	X-Ray	Radium	CM	SM	TC	
1	胃 癌		6 g			30万 u					+	+	+	A. aerog. I
2	顎下腺癌							15,400 r			+	+	+	中 間 I
3	結 腸 癌		26 g			1,040万 u					+	+	+	A. aerog. II
4	子 宮 癌							12,000 r			-	-	+	E. coli I
5	乳 癌		6 g			240万 u		10,000 r			+	+	+	A. aerog. I
6	辜 丸 癌			34 g				9,000 r			+	+	+	E. coli I
7	甲 状 癌							7,000 r	1,000 r					
8	上 顎 癌							5,000 r			+	+	+	E. coli I
9	子 宮 癌	1.4 g	14 g			560万 u		13,600 r			+	+	+	A. aerog. II
10	胃 癌		10 g	1.5 g		400万 u								
11	子 宮 癌			25 g	4 g			11,200 r			+	+	+	中間 I
12	子 宮 癌			6 g		200万 u		6,000 r			+	+	+	中間 II
13	子 宮 癌	3 g	5 g					6,800 r			-	-	+	E. coli II
14	子 宮 癌		18 g			720万 u					+	+	+	E. coli I
15	子 宮 癌	1 g						5,000 r			+	+	+	E. coli I
16	子 宮 癌						21 g	12,800 r		6,210 mg				
17	子 宮 癌							13,600 r			+	+	+	E. coli I
18	外 陰 癌	10 g									+	+	+	中間 I
19	子 宮 癌								40,000 r					
20	乳 癌		12 g			480万 u		6,000 r			+	+	+	E. coli I
21	子 宮 癌		30 g			1,200万 u		9,600 r	5,000 r		+	+	+	E. coli II
22	子 宮 癌	+	+		+	+		8,400 r			+	+	+	E. coli I
23	胃 癌		10 g	1.5 g							+	+	+	E. coli I
24	子 宮 癌	3.6 g						9,600 r			+	+	+	中間 II
25	胃 癌		2 g			80万 u								
26	子 宮 癌	9 g	7 g	1.5 g		280万 u	8 g	10,400 r						
27	子 宮 癌							800 r			-	-	+	E. coli I
28	食 道 癌							7,040 r			+	-	+	E. coli I
29	辜 丸 癌							29,000 r			-	-	+	E. coli I
30	後腹膜腫瘍		10 g	1.5 g		400万 u					+	-	+	E. coli I
31	直 腸 癌		10 g	1.5 g		400万 u		7,200 r			+	-	+	中間 II
32	子 宮 癌	8 g	30 g		20 g	1,200万 u		6,000 r		5,310 mg				
33	子 宮 癌							8,000 r			+	+	-	E. coli II
34	胃 癌							4,000 r			+	-	+	E. coli I
35	子 宮 癌							9,200 r			+	+	+	中間 I
36	乳 癌							9,020 r						
37	肝 癌		4 g			160万 u								
38	乳 癌								4,000 r					

(註) 投与薬品中+は使用したがその量が不明の場合、⁶⁰Co は総深部量

表 5 放射線照射と耐性株との関係

		放 射 線		計
		+	-	
耐性株	+	22	6	28
	-	7	3	10
計		29	9	38

表 6 ⁶⁰Co 照射と耐性株との関係

		放 射 線		計
		+	-	
耐性株	+	22	6	28
	-	5	5	10
計		27	11	38

て、 ^{60}Co について同様な検討を試みると、表 6 の如くで、使用例は 81%、使用しない例は 54% と陽性率に開きが出たが、 χ^2 -test を試みると $\chi^2=2.92$, $0.1 > p > 0.05$ で、有意差を証明するには至っていない。

ロ) 抗生物質使用と耐性株の出現との関係

症例は表 4 の如く、放射線治療のほかに、抗生物質の使用もあるので、当然これによる耐性株出現も考えられる。

CM, SM 及び TC 使用とそれぞれの耐性株出現との関係は、表 7, 表 8, 表 9 の如くで、やや抗生物質使用例にいずれも耐性株の陽性率が高いが、有意差はない。この 3 表の数字を合計したのが、表 10 で、殆んど同じである。

表 7 CM 投与と耐性株との関係

		CM		計
		+	-	
耐性株	+	6	18	24
	-	2	12	14
計		8	30	38

表 8 SM 投与と耐性株との関係

		SM		計
		+	-	
耐性株	+	10	11	21
	-	7	10	17
計		17	21	38

表 9 TC 投与と耐性株との関係

		TC		計
		+	-	
耐性株	+	6	21	27
	-	2	9	11
計		8	30	38

表 10 抗生物質投与と耐性株との関係
(表 7, 表 8, 表 9 の計)

		抗 生 物 質		計
		+	-	
耐性株	+	22	50	72
	-	11	31	42
計		33	81	114

ハ) 放射線使用及び抗生物質使用との関連
症例の多くが、放射線と抗生物質とを同時に使用し

ているので、耐性株の出現が、この両因子の何れに原因或は誘因があつたかの検討には、更に細分を進めねばならない。

先ず、放射線と抗生物質の使用組合せと耐性株出現とをみると、表 11 の如くである。

表 11 放射線と抗生物質使用状況と耐性株との関係

治 療 法	症 例	耐 性 株	
		例 数	%
放 射 線+抗生物質	12	10	83.5
放 射 線 の み	16	11	68.4
抗 生 物 質 の み	10	7	70.0
両 者 使 用 せ ず	0	0	—

即ち、両者使用、抗生物質のみ、放射線のみと云う順になつている。

更に詳しくみるために、SM, CM 及び TC と ^{60}Co との関係、それに対照の意味で Penicillin (Pe) と ^{60}Co との関係を採り上げてみると、表 12, 表 13, 表 14 及び表 15 の如くである。

これをみると、SM, CM, TC, との場合、 ^{60}Co と共に使用されている場合が、耐性株の出現率は最も大で——CM の場合、CM のみが 100% であるが、症例 2 例なので除外するとして—— ^{60}Co 単独と抗生物

表 12 SM と ^{60}Co 使用と耐性株との関係

治 療 法	症 例	耐 性 株	
		例 数	%
SM+ ^{60}Co	9	6	66.6
^{60}Co のみ	18	10	55.5
SM のみ	8	4	50.0
両者使用せず	3	1	33.3

表 13 CM と ^{60}Co 使用と耐性株との関係

治 療 法	症 例	耐 性 株	
		例 数	%
CM+ ^{60}Co	6	4	66.6
^{60}Co のみ	21	14	66.6
CM のみ	2	2	100.0
両者使用せず	9	4	44.4

表 14 TC と ^{60}Co 使用と耐性株との関係

治 療 法	症 例	耐 性 株	
		例 数	%
TC+ ^{60}Co	5	4	80.0
^{60}Co のみ	22	17	77.1
TC のみ	3	2	66.6
両者使用せず	8	4	50.0

表 15 Pc と ^{60}Co 使用と耐性株との関係

治 療 法	症 例	耐 性 株	
		例 数	%
Pc+ ^{60}Co	9	7	77.8
^{60}Co のみ	18	15	83.5
Pc のみ	7	4	57.2
両者使用せず	4	2	50.0

質単独とは大体同率、両者使用せずが、これ等の率より低い。

ところが、Pc の場合、Pc+ ^{60}Co と ^{60}Co が高く、

Pc のみと両者使用せずが低くほぼ同率で、Pc は耐性株出現には関与していない様である。

考 按

放射線が、腸内細菌叢の耐性株出現に、何か効果を示すのではないかと考えたの下に、癌患者を中心として、その糞便中の大腸菌の耐性株を検索することによって検討したが、癌患者の中には、耐性株出現機序に関与するとも考えられる抗生物質も使用しているので、その検討も複雑となつている。

今これ等を整理する意味でその総括成績を一つの表

表 16 総 括 表

耐性株出現率 %	(CM のみ)					
	放射線使用 平均値 放射線使用 せず	CM 使用 TC 使用	放射線 + 抗生物質	SM+ ^{60}Co	TC+ ^{60}Co ^{60}Co のみ	^{60}Co のみ
100						
90						
80	^{60}Co 使用	TC 使用せず	抗生物質のみ 放射線のみ		TC のみ	Pc+ ^{60}Co
70	放射線使用 平均値 放射線使用 せず	CM 使用せず SM 使用		SM のみ	両者使用せず	両者使用せず
60	^{60}Co 使用せず	SM 使用せず				
50						
40						
30						
20						
10						
0						
	放射線使用 有無	抗生物質使用 有無	放射線, 抗生物質 使用有無	SM・ ^{60}Co 使用有無	CM・ ^{60}Co 使用有無	TC・ ^{60}Co 使用有無

に示したのが、表 16 である。

この表をみると、放射線照射、この例では ^{60}Co の例が多かつたが、耐性株出現に誘導効果を表わしているのではないかと考える。

勿論、放射線単独ではどれだけの効果があるかは、放射線と抗生物質使用有無の成績(表 11)からみると、抗生物質使用の場合と同じ程度から、ここでは、両者高率だが、実際はまだ低いであろう。しかし、この両者が同時に用いられた時には、相乗式にこの機会を与えるのではないかと考える。

以上のことは、放射線治療に於ける耐性菌の流行の危険を予想すると共に、耐性株の在野性出現の一部を示すものとも考える。

本研究について、御教示御協力を戴いた日赤病院第二外科太中弘部長に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 落合国太郎他：日本医事新報，No. 1861 (1959)
- 2) 秋葉朝一郎：日本医事新，No. 1866, 46 (1960)
- 3) 玉井敏造：日医大誌，28, 63 (1961)
- 4) 酒寄 盛：日医大誌，26, 945 (1959)
- 5) Demerec, M.: Symp. Soc. Exp. Biol., 7, 43

(1953)

- 6) 淡路千代治：日医大誌，**28**，1181 (1961)
 - 7) 一井和夫：日医大誌，**28**，1239 (1961)
 - 8) Demerec, M : Amer. Nat., 89, 5 (1955)
 - 9) 小酒井 望：日本医事新報，No. 1783, 15 (1958)
 - 10) 小川透他：名古屋大医誌，**3**，129 (1952)
 - 11) 森川 清：日医大誌，**26**，877 (1959)
 - 12) 本橋 昇：日医大誌，**26**，529 (1959)
 - 13) 藤田昭丸：日医大誌，**28**，565 (1961)
 - 14) 乗木秀夫他：第17回日本公衆衛生学会口演 (1961)
 - 15) 尾内能夫：日産婦誌，**11**，(8)，1159 (1959)
-