健康成人咽頭好気性菌叢の構成にかんする研究

金沢大学医学部第三内科（主任 服部絢一教授）

舟 田 久

A STUDY ON COMPOSITION OF NORMAL PHARYNGEAL FLORA

Hisashi FUNADA, M.D.

The Third Department of Internal Medicine, Kanazawa University, School of Medicine,
Kanazawa, Ishikawa, Japan (Director: Prof. Kenichi Hattori)

概要 金沢市在住の満15才～69才の健康人 167名を対象に、咽頭菌叢の構成について種々の観点から解析を加えた。健康成人の咽頭菌叢を構成する菌種の範囲と量的多寡に一定の傾向がみられ、その構成は、本質的には、性別、年齢や喫煙に左右されないものであつた。健康成人の咽頭菌叢は、 α -Streptococcus, Neisseria, γ -Streptococcus, Micrococcus, Corynebacteriumの5菌種による固定的菌叢と、通常、2～4種の菌による流動的菌叢からなりたち、全体としての堅牢性を維持していると考えられた。季節的変動からみると、冬期に分離菌種の範囲や健康人一人あたりの分離菌種数のみならず、各菌の検出率が夏期よりも増大する傾向にあり、さらに、冬期菌叢には、年齢や喫煙の影響ならびに菌相互の関係が複雑に作用しあつて示唆された。また、喫煙群の菌叢構成は、非喫煙群のものより、季節変化に安定であつた。それで、夏期菌叢が、その簡潔さから、季節的に最も基本的な菌叢構成を呈すると考えられた。抗生薬（ampicillin）投与による菌叢構成の攪乱は、流動的菌叢に著明にあらわれ、みかけ上の変化が回復しても、さらに引き続くことが示された。咽頭にグラム陰性桿菌を有する健康成人には、生菌や加熱菌に対する血中抗体価の上昇を認めなかつた。これらの成績は、一般呼吸器感染症や宿主防禦能低下時に発症する感染症の原因菌検索のために実施される咽頭培養の成績の解釈に有用であることが示唆された。

緒 言

咽頭菌叢を構成する菌が豊富なことと個々の菌に対する臨床細菌学的知識が不十分なことから、従来の咽頭培養では、病原性の高い菌のみが注目され、病原性の低い、いわゆる弱毒菌¹⁾は見捨てられる傾向にあつた。しかし、近年、弱毒菌感染症が増加する²⁾に従つて、これらの菌を再認識する必要が生じてきた。弱毒菌が宿主防禦能の低下時に病原性を発揮するにいたる際には、常在菌叢にもなんらかの生態学的変化を伴うことが当然予

想される。他方、健康成人の咽頭菌叢については、各種細菌の検出率の報告は多数あつても³⁾、その構成に言及したものはほとんどないと言つてよい。

このため、健康成人の咽頭菌叢の構成についての解析は、一般呼吸器感染症や宿主防禦能の低下時に発症する感染症において、原因菌検索⁴⁾のために行なわれる咽頭培養の成績の解釈に極めて有用な手懸りを与えることになる。

本研究では、健康成人の咽頭菌叢について、性別、年齢、季節や喫煙による菌叢構成の差異、菌叢の週的変動ならびに抗生薬投与が菌叢に及ぼす

〔昭和50年4月4日受稿〕

Table 1. Distribution of healthy subjects.

A) Winter Series (Dec. 1972 - Feb. 1973)

Age (y. o.)	15--19	20--29	30--39	40--49	50--59	60--69	Total
Sex							
Non-smokers	5	10	10	10	10	10	55
Males							
Smokers	0	5	2	4	6	3	20
Non-smokers	6	21	10	11	10	11	69
Females							
Smokers	0	1	1	2	1	1	6
							150

B) Summer Series (Jun. - Aug. 1973)

Age (y. o.)	15--19	20--29	30--39	40--49	50--59	60--69	Total
Sex							
Non-smokers	1	7	4	3	5	1	21
Males							
Smokers	0	6	6	4	7	7	30
Non-smokers	1	7	10	7	8	18	51
Females							
Smokers	0	0	1	2	0	0	3
							105*

* : 88 of these subjects (non-smokers: 65; smokers: 23) were also examined in the winter series.

影響を検討したので、その成績を報告する。

研究対象

金沢市在住の満15才から69才までの病歴と理学的検査所見に異常のない健康成人を対象とした。過去2カ月間に抗生薬の服用のないこと、扁桃摘出や切除術を受けたことのないこと、歯科的疾患がなく、義歯でもよいが歯数に欠如のないこと、および過去2週間にアルコール類の飲用のないことも条件にした。

1) 冬期健康成人咽頭菌叢の調査対象

1972年12月から1973年2月までの3カ月間に、性別、年齢と喫煙の偏りをなくすために、男女各年齢につき少なくとも1名の非喫煙者を含むように心懸けた。調査総人数は150名で、その内分けは、表1に示した。

なお、青、壮年者層と老年者層の年齢境界は、Matsubaら⁵⁾の健康人血漿蛋白分画の調査結果を参考にして、60才とした。喫煙者とは、1日に紙巻きタバコを10本以上喫煙するものをさし、非喫煙者とは、まったく喫煙しないものをさしている。

2) 夏期健康成人咽頭菌叢の調査対象

1973年6月から同年8月までの3カ月間に、冬期と夏期の咽頭菌叢の構成の比較のため、前回の調査対象者を中心に、それ以外の若干の健康成人を加えて調査した。表1に示したように、調査総人数は、105名で、前回の調査対象者は、そのうちの83.8% (88名) を占めた。夏期に新しく調査対象となつたのは、喫煙男子10名と非喫煙女子(60~69才)の7名である。

3) 咽頭菌叢の週的変動の調査対象

夏期咽頭菌叢の調査に引き続いて、1973年9月から同年10月までの2カ月間に、毎週定期的な咽頭培養が可能な、20~40才台の非喫煙健康成人13名(男7名、女6名)を対象とし、毎週同一日時に一斉に実施した。

4) 抗生薬の咽頭菌叢に及ぼす影響の調査対象

上記週的変動調査と平行して、20才台の非喫煙健康人男子3名、女子2名のvolunteerを対象とした。ampicillin (AB-PC) 2g/日 (0.5g × 4) の経口を7日間に行なつて、抗生薬投与前後の咽頭菌叢の変動を2カ月間にわたり調査した。

研究方法

a) 咽頭細菌検査法

Table 2. Isolation media used in this study.

1. Blood agar*
in both aerobic and candle-jar cultures
2. Chocolate agar*
in both aerobic and candle-jar cultures
3. Modified Drigalski agar 'Eiken'
4. MacConkey agar 'Nissan'
5. Sabouraud dextrose agar 'Eiken'
6. Candida GS agar 'Eiken'
7. PEA azide agar 'Eiken'
8. Mannitol salt agar 'Eiken'
9. HB diphtheria agar 'Eiken'
10. Modified Thayer-Martin agar 'Nissan'
in candle-jar culture only
11. EF agar 'Nissan'
12. Rogosa agar⁸⁾

*: Tryptosoy agar 'Eiken' was supplemented with 5% sheep red blood cells.

1) 検体の採取： 検体の採取は、当科研究室で午前10時頃、水道水によるうがいを十分にさせたあと、炭末処理滅菌綿棒で他の部位に触れないように、右側扁桃表面を強くこすつて分泌物をとり、直ちに塗抹検査と培養検査に供した。

2) 塗抹検査と培養検査： 小酒井⁶⁾とCowan & Steel⁷⁾の成書に従つて、好気性菌についてのみ確認培養を行なつた。本研究に使用した分離培地は表2に掲げた。

3) 集落の量的表現： 咽頭粘液中の細菌数を定量することは困難なので、各菌種の平板上における集落数を表3のごとき5段階に分けて記録した。しかし、検体の採取や平板への塗布の仕方、時に分離平板上の集落数が少ないことがあるので、少なくとも一菌種以上が卍を示す培養成績が集計に加えられた。なお、一菌種以上が卍を示さない場合には、再検査のうえ集計に加えられた。集落数の観察は、分離培養24時間後と48時間後の2回行なつた。

4) 培養成績の集計と処理方法： 検出率の有

Table 3. Semi-quantitative estimation of microbial colonies.

- +++ : plate covered or nearly so
 ++ : approximately 2/3 plate covered
 + : approximately 1/3 plate covered
 (+) : an occasional colony, up to 20
 - : completely lacking

意差検定は、chi square analysisにより、必要に応じてYatesの修正を加えた。

b) 血中抗体価の測定

Haemophilus属を除くグラム陰性桿菌(GNR)の同一菌種が2回以上分離された健康人について、生菌と加熱菌に対する血中抗体価の測定を行なつた。

冬期と夏期の両咽頭培養で同一菌種のGNRが分離された健康人では、夏期の菌株とその同定時の血清を使用した。

咽頭菌叢の週的変動調査では、2回以上同一菌種を分離した健康人について、その最終分離株と調査開始前血清ならびに最終咽頭培養実施後血清を使用した。

抗生薬投与剤では、投与後2回以上同一菌種が分離された場合に、その最終分離菌株と投与前血清ならびに投与終了2週後と6週後の血清を使用した。

なお、同一菌種であつても、生物学的性状検査で2性状以上、また、薬物感受性試験で2剤以上の違いを示す菌株は除外した。加熱菌の作製ならびに抗体価の測定は、既報⁹⁾に従つた。

成 績

1) 冬期と夏期の健康成人咽頭菌叢の構成

冬期における健康成人150名と、夏期における105名の咽頭培養で分離された菌種、ならびにその検出頻度と百分率を表4に示した。冬期には29種類、夏期には24種類の菌が分離された。検出率が60%近く、あるいは、それ以上の菌種についてみると、冬期には α -Streptococcus, Neisseria, γ -Streptococcus, Micrococcus, Staph. aureus, H. influenzae, H. parainfluenzae, Corynebacterium, Lactobacillusの9種類で夏期は6種類で、Staph. aureus, H. influenzae, Lactobacillusの3菌種は検出率が60%以下に低下した。また、季節に関係なく、検出率の高いものは分離平板上でも多数を占める割合が高いが、検出率の低いものでは、 β -StreptococcusとD. pneumoniaeを除いて、分離平板上で占める割合が低い傾向がみられた。さら

Table 4. Composition of pharyngeal flora in healthy subjects.

Species or Group	Winter Series (Dec. 1972-Feb. 1973)					Total of Positives	Summer Series (Jun.-Aug. 1973)					Total of Positives
	Distribution of 150 Subjects						Distribution of 105 Subjects					
	+++	++	+	(+)	-		+++	++	+	(+)	-	
<i>α-Streptococcus</i>	150					150(100.0)*	105					105(100.0)
<i>Neisseria</i>	119	28	3			150(100.0)	76	25	4			105(100.0)
<i>γ-Streptococcus</i>	56	56	34	1	3	147(98.0)	53	26	26			105(100.0)
<i>Micrococcus</i>	53	59	26	6	6	144(96.0)	27	32	30	2	14	91(86.7)
<i>Staph. aureus</i>	11	23	25	28	63	87(58.0)	6	9	11	17	62	43(41.0)
<i>Staph. epidermidis</i>	1	1	5	28	115	35(23.4)	1	1	4	19	80	25(23.4)
<i>H. influenzae</i>	22	42	24	6	56	94(62.7)	6	17	10		72	33(31.4)
<i>H. parainfluenzae</i>	55	53	16	2	24	126(84.0)	22	32	15	2	34	71(67.7)
<i>H. haemolyticus</i>	2		2	1	145	5(3.3)					105	0(0.0)
<i>H. parahaemolyticus</i>	20	22	18	2	88	62(41.3)	3	12	12	1	77	28(26.7)
<i>H. haemoglobinophilus</i>			1		149	1(0.7)					105	0(0.0)
<i>Corynebacterium</i>	22	57	52	11	8	142(94.7)	24	36	33	2	10	95(90.5)
<i>Klebsiella</i>			1	8	141	9(6.0)			6	9	90	15(14.3)
<i>Enterobacter</i>				1	149	1(0.7)				3	102	3(2.9)
<i>E. coli</i>				4	146	4(2.7)			2	2	101	4(3.8)
<i>Pseudomonas</i>				1	149	1(0.7)				1	104	1(1.0)
<i>A. anitratus</i>				1	149	1(0.7)			2	1	102	3(2.9)
<i>Moraxella</i>			1		149	1(0.7)					105	0(0.0)
<i>C. albicans</i>		1	2	13	134	16(10.7)			5	10	90	15(14.3)
Other <i>Candida</i>		1	4	9	136	14(9.3)		2	1	10	92	13(12.4)
<i>Lactobacillus</i> **	2	5	6	14	15	27(59.5)	2	3	15	27	58	47(44.7)
Group A <i>β-Streptococcus</i>	2	3	6	6	133	17(11.4)		1		2	102	3(2.9)
Non-group A,D <i>β-Streptococcus</i>	4	5	2	6	133	17(11.4)	1	1	1	1	101	4(4.0)
<i>D. pneumoniae</i>		4		1	145	5(3.3)	1	3			100	5(4.9)
<i>Aerococcus</i>				3	147	3(2.0)				1	104	1(1.0)
<i>B. subtilis</i>				7	143	7(4.7)			3	3	99	6(5.8)
<i>B. cereus</i>				1	149	1(0.7)				1	104	1(1.0)
<i>B. pulvifaciens</i>			1		149	1(0.7)					105	0(0.0)
<i>Actinomyces</i>				2	148	2(1.3)					105	0(0.0)

* : Figures in parentheses denote incidence in percent.

** : In the winter series *Lactobacillus* was examined in only 42 healthy subjects.

Table 5. No. of species and groups composing pharyngeal flora in each of healthy subjects.

No. of Species and Groups*	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Winter Series			13**	26	50	37	15	8	1	150
Summer Series	1	9	19	24	31	15	5	1		105

* : *Lactobacillus* was excluded from this investigation.

** : no. of healthy subjects

に、各genusに含まれる菌種間の検出率の高低の順序には、季節に関係なく、一定の傾向がみられた。Staphylococcus属では、Staph. aureus, Staph. epidermidisの順で検出率が高く、Staph. epidermidisの検出率は、冬期と夏期において同率であった。Haemophilus属では、H. parainfluenzae, H. influenzae, H. parahaemolyticusの順であった。Haemophilus属を除くGNRでは、Klebsiella, 次いでE. coliの検出率が高かった。Candidaでは、C. albicansが他のcandidaに比して検出率が高かった。Bacillus属では、B. subtilisの検出率が一番高かった。

咽頭菌叢を構成する菌種数を各健康人について

調査し、その集計を季節別に表5に示した。冬期には、健康人につき6~12種類の菌が見い出され、8~9種類の頻度が高かった。一方、夏期には、健康人につき4~11種類の菌が見い出され、7~8種類の頻度が高かった。つまり、冬期に比して、夏期には各健康人から分離される菌種数が減少する傾向が窺われた。

なお、冬期でも夏期でも健康人一人あたりから分離された菌種数には、性別、年齢や喫煙による差異は認められず、夏期には、冬期に比べて、一様の減少を示す傾向にあった。

菌相互の関係について調査した成績を表6に示した。冬期と夏期ともに、Staph. aureusとStaph.

Table 6. Microbial interactions in composition of pharyngeal flora.

(A) Other Organism	Swabs with Staph. aureus	
	Present	Absent
Staph. epidermidis Present	7 / 1 *	28 / 24
Staph. epidermidis Absent	80 / 42	35 / 38

Winter Series: $\chi^2 = 27.06147$ ($p < 0.001$)Summer Series: $\chi^2 = 18.52860$ ($p < 0.001$)

(B) Other Organism	Swabs with Lactobacillus	
	Present	Absent
Candida Present	11 / 18 *	1 / 10
Candida Absent	16 / 29	14 / 48

Winter Series: $\chi^2 = 3.94333$ ($p < 0.05$)Summer Series: $\chi^2 = 5.88625$ ($p < 0.05$)* : $\frac{\text{no. of swabs encountered in the winter series}}{\text{no. of swabs encountered in the summer series}}$

epidermidisの間に干渉の関係が、Candidaと Lactobacillusの間に共存の関係がみられた。

2) 健康成人咽頭菌叢の季節内と季節間比較

冬期と夏期の咽頭菌叢の構成について、性別、年齢や喫煙による差異を検討したのが表7-Aである。冬期咽頭菌叢の構成には、非喫煙群で性別による有意の差をみないが、年齢による有意の差が Staph. epidermidis と Candida に認められ、両者とも老年層に検出率が高かった。喫煙の有無による有意の差は、Staph. aureus と Staph. epidermidis に認められ、前者は非喫煙群、後者は喫煙群に検出率が高かった。恐らく、冬期に、年齢と喫煙の因子が Staph. epidermidis の咽頭への定着を助長するように思われた。一方、夏期咽頭菌叢の構成には、非喫煙群で性別、年齢による有意差はなく、また喫煙による有意の差は認められなかった。上述の夏における健康成人の咽頭培養で分離された菌種数や健康人一人あたりの菌叢構成菌種数の成績とあわせて、健康成人の夏期咽頭菌叢は、性別、年齢や喫煙の因子に左右されない最も基本的な構成を呈すると考えられる。

冬期と夏期の咽頭菌叢の構成について、季節間

Table 7. Difference in composition of pharyngeal flora.

(A) Intraseasonal Difference

a) Winter Series (N = 150)

1) Sex Difference (Non-smokers)

Males: n=55, Females: n=69

No significant difference

2) Age Difference (Non-smokers)

Organism	Adult n=103	Aged n=21
Staph. epidermidis	16*	9
Candida	18	9

p<0.05

3) Difference Related to Smoking

Organism	Non-smoker n=124	Smoker n=26
Staph. aureus	79	8
Staph. epidermidis	25	10

p<0.05

(B) Interseasonal Difference

1) Non-smoker Groups

Organism	Winter n=124	Summer n=72
Micrococcus	119	61
Staph. aureus	79	26
H. influenzae	74	21
H. para-influenzae	106	48
Klebsiella	7	10

p<0.05

b) Summer Series (N = 105)

1) Sex Difference (Non-smokers)

Males: n=21, Females: n=51

No significant difference

2) Age Difference (Non-smokers)

Adult: n=53, Aged: n=19

No significant difference

3) Difference Related to Smoking

Non-smokers: n=72, Smokers: n=33

No significant difference

2) Smoker Groups

Organism	Winter n=26	Summer n=33
H. influenzae	20	12

p<0.05

* : no. of positive subjects

Table 8. Seasonal variation in haemophilus species.

No. of Species	Combination	Winter	Summer
1	H. inf. only	9*	6
	H. parainf. only	20	36
	H. haemo. only	1	0
	H. parahaemo. only	6	9
	Sum	36	51
2	H. inf. & H. parainf.	51	18
	H. inf. & H. haemo.	1	0
	H. inf. & H. parahaemo.	1	2
	H. parainf. & H. parahaemo.	23	10
	H. haemo. & H. parahaemo.	1	0
	Sum	77	30
3	H. inf., H. parainf. & H. haemo.	1	0
	H. inf., H. parainf. & H. parahaemo.	29	7
	Sum	30	7
4	H. inf., H. parainf., H. haemo. & H. parahaemo.	1	0
	H. inf., H. parainf., H. parahaemo. & H. haemogl.	1	0
	Sum	2	0
	Negative	5	17
Total		150	105

* : no. of positive subjects

差異を検討したのが表 7-B である。非喫煙群では, *Micrococcus*, *Staph. aureus*, *H. influenzae*,

H. parainfluenzae, *Klebsiella* の検出率に有意の差がみられ, *Klebsiella* を除く他の 4 菌種は, 夏期に検出率の減少を示した。喫煙群では, *H. influenzae* の検出率だけが夏期に有意の減少を示した。季節間差異の検討で有意の差を示した菌種数でみるかぎり, 喫煙群の咽頭菌叢の方が非喫煙群のものより季節変化に安定であると考えられた。

同一-genus の菌種の組み合わせにおける季節変化を *Haemophilus* 属で検討したのが表 8 である。組み合わせの菌種数について, 冬期は 2 菌種での頻度が高いのに比して, 夏期は 1 菌種での頻度が高かった。組み合わせの種類でみると, 冬期と夏期ともに, 1 菌種単独のものでは, *H. parainfluenzae*, 2 菌種のものでは *H. influenzae* と *H. parainfluenzae* の組み合わせ, 3 菌種のものでは, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae* と *H. parahaemolyticus* の組み合わせの頻度が高かった。4 菌種の組み合わせは, 冬期にみられたのみであつた。全

Table 9. Weekly throat cultures in 13 healthy subjects*.

Details in Positive Subjects Species or Cultures or Group	No. of Positive Subjects (A) N=13	No. of Positive Cultures N=104	Distribution of Positive Cultures				No. of Positive Cultures per Positive Subject Median Subject Range		No. of Positive Subjects with ≤ 3 Positive Cultures (B)
			+++	++	+	(+)			
α -Streptococcus	13	104	104				8	8	
Neisseria	13	104	87	17			8	8	
γ -Streptococcus	13	103	54	28	21		8	7-8	
Micrococcus	13	98	31	33	32	2	8	7-8	
Staph. aureus	12	84	6	14	42	22	8	3-8	1 (8% **)
Staph. epidermidis	6	15			4	11	1.5	1-6	4 (67%)
H. influenzae	10	33	4	17	9	3	3	2-5	6 (60%)
H. parainfluenzae	13	85	21	38	25	1	7	4-8	
H. parahaemolyticus	13	43		22	15	6	3	1-6	7 (54%)
Corynebacterium	13	96	12	34	47	3	8	6-8	
Klebsiella	7	12			2	10	2	1-3	7 (100%)
Enterobacter	5	9		1	2	6	1	1-4	4 (80%)
E. coli	3	3		1	2		1	1	3 (100%)
Moraxella	1	1			1		1	1	1 (100%)
Candida	7	21	1		4	16	4	1-5	3 (43%)
Lactobacillus	12	26			6	20	2	1-6	11 (92%)
Group A β -Streptococcus	1	1				1	1	1	1 (100%)
Non-group A, D β -Streptococcus	5	8	2	2	3	1	1	1-3	5 (100%)
D. pneumoniae	4	7	1	2	3	1	1.5	1-3	4 (100%)
Enterococcus	1	1			1		1	1	1 (100%)
Aerococcus	1	1		1			1	1	1 (100%)
B. subtilis	2	3				3	1.5	1-2	2 (100%)
B. cereus	2	2		1		1	1	1	2 (100%)

* : This investigation was carried out from September to October, 1973. 8 weekly cultures were obtained from each subject.

** : $\frac{(B)}{(A)} \times 100 (\%)$

般的に、*Haemophilus*属では、菌種の組み合わせに季節変化をみないが、夏期は冬期に比べて組み合わせに含まれる菌種数が減少する傾向がみられた。

3) 健康成人咽頭菌叢の週的変動

13名の健康成人に2カ月間にわたり、毎週定期的に一齐に咽頭培養を行なった成績を表9に示した。分離された菌種総数は23種類であつた。すべての健康人に少なくとも1回以上検出されたのは7菌種で、そのうち少なくとも6回以上検出されたのは、*α-Streptococcus*, *Neisseria*, *γ-Streptococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*の5菌種であつた。恐らく、この5菌種が咽頭菌叢のなかにあつて固定的なものと考えられる。*H. parainfluenzae*は、すべての健康人より分離され、その分離回数が4~8回、中央値7回との成績から、咽頭への定着性は強いものの、上記グループほど固定的でなさそうである。その他の菌種は、まったく検出されない健康人があつたり、検出されてもその頻度が健康人により変動が著しかつた。このグループに属する菌種のうちでも、*Staph. aureus*は、12名の検出者のうちで検出回数が3回以下の人が占める割合は、8% (1名) にすぎず、また、検出者での検出回数の中央値が8回であつたことより、一旦、咽頭に定着すると、その定着性は堅固なものであることが示唆された。一方、これら7菌種を除く16菌種は、検出者総数の中で検出回数が3回以下の人の占める割合が43~100%であり、また、検出回数の範囲やその中央値より、これらの菌は、*transient bacteria*の性格が強いことが想定された。

さらに、健康成人咽頭菌叢の堅牢性を構成菌種数から検討したのが図1と2である。図1は、毎週咽頭培養実施の都度、各健康人から分離された菌種数の中央値を求め、その週の変動をみたものである。1週目と2週目の9菌種を除けば、以後すべて8菌種であり、菌種数からみた咽頭菌叢はまったく堅固と言える。図2は、各健康人あたり8回の咽頭培養で分離された菌種数の中央値の度

Fig. 1. Stable composition of pharyngeal flora and its derangement due to AB-PC administration.

Fig. 2. Uniform composition of pharyngeal flora.

数分布を示したものである。各健康人の中央値の範囲は7~9菌種と狭く、8菌種にピークがみられた。つまり、この調査期間内では、咽頭菌叢は上述の5菌種を固定的菌叢として、2~4菌種が流動的に出入りしたと考えられた。

4) AB-PC投与が咽頭菌叢の構成に及ぼす影響

上述の週的変動調査と平行して、5名の健康成人を対象に検討した。図1に非投与群の場合と同様に、分離菌種数について毎週の中央値をプロットして、AB-PC投与後の週的変動をみた。投与群総数が少なく、詳細な比較は困難であるが、非投

Table 10. Effect of AB-PC administration on composition of pharyngeal flora.*
Comparison of pre-administration flora with post-administration ones.

Disappearance After Cessation of AB-PC Administration					Appearance After Cessation of AB-PC Administration					
6 W	4 W	2 W	1 W	O W	Organism	O W	1 W	2 W	4 W	6 W
				3**	<i>γ-Streptococcus</i>					
				4	<i>Micrococcus</i>					
				1	<i>Staph. aureus</i>					
					<i>Staph. epidermidis</i>	2			1	
					<i>H. influenzae</i>		1	2	2	3
					<i>H. parainfluenzae</i>		1	1	1	1
					<i>H. haemolyticus</i>					1
1	1	1	1	1***	<i>H. parahaemolyticus</i>	1	1		2	1
				1	<i>Corynebacterium</i>					
			1		<i>Klebsiella</i>					
					<i>Enterobacter</i>	3	3	1		
					<i>Serratia</i>	1	1			
					<i>A. anitratus</i>	1				
		1			<i>Candida</i>	1	1	2	1	
					<i>Lactobacillus</i>	1	2	1	2	3
					Non-group A, D <i>β-Streptococcus</i>				1	1
1	1	1	1	1***	<i>D. pneumoniae</i>					
					<i>Enterococcus</i>	1				

* : AB-PC in a daily dose of 2.0g (0.5g X 4 per os) was administered for 7 days to each of 5 healthy subjects. *α-Streptococcus* and *Neisseria* remained almost unaffected throughout the period of this investigation.

** : no. of healthy subjects

*** : Each of these organisms disappeared completely after cessation of AB-PC administration in 2 discrete subjects.

与群に比べ、かなりの変動がみられた。投与終了時に菌種数の上での変化はなかつた。しかし、投与終了後2週目に9菌種と投与前に比べて2菌種の増加を認め、一旦回復するが、投与終了6週以後再度上昇がみられた。この変化を各菌種別にみたのが表10である。*α-Streptococcus*と*Neisseria*は、調査全期間を通して常に検出された。投与終了時には、グラム陽性球菌(GPC)が消失し、GNRが出現するのが特徴であつた。しかし、GPCでも、*Staph. epidermidis*は逆に出現している。しかし、菌種数の出納では差がなかつた。その後週を経るごとに、*Haemophilus*、*Candida*、や*Lactobacillus*は増加し、投与終了時に出現したGNRは消失している。つまり、抗生薬投与後の菌叢は、投与終了後2週目にみかけ上の変化が回復するようにみえるが、上述の非投与群の2カ月間の調査結果と比較して、その変化は少なくとも投与終了後6週間以上続くと考えられた。

5) *Haemophilus*属を除くGNRに対する血中

抗体価の測定

冬期と夏期に同一GNRを分離した健康人は3名で、内訳は、*Klebsiella* 2名、*Enterobacter* 1名であつた。週的変動調査で2回以上同一GNRを分離した健康人は6名で、内訳は、*Klebsiella* 3名、*Enterobacter* 3名であつた。さらに、抗生薬投与後出現したGNRに対する血中抗体価測定の対象者は3名で、内訳は、*Klebsiella* 1名、*Enterobacter* 2名、*Serratia* 1名であつた。*Klebsiella*での健康人は投与前より咽頭に本菌を認めた。また、[他の1名は、*Enterobacter*と*Serratia*の同時出現を認めた。しかし、これらの健康人には、生菌や加熱菌に対する血中抗体価の上昇を認めたものがなかつた。

考 察

咽頭培養は、呼吸器感染症の原因菌検索のために行なわれるのが常であるが、近年、急性白血病などの全身性疾患に合併する感染症は、病初に発熱を除いて典型的な症状や所見を欠き、感染病巣

の不明なことが多いので、咽頭培養がroutine surveillance culturesの一環として行われている。しかし、宿主防禦能低下時に発症する呼吸器感染症のみならず、他の感染症の原因菌は、従来の病原菌に比べて、いわゆる弱毒菌が多いため、咽頭培養で検索する原因菌の範囲が拡大し、培養成績の解釈に困惑することが多くなってきた。

また、この弱毒菌と称される菌の多くが、生体の皮膚や粘膜にみいだされる。咽頭菌叢はあくまでも宿主との関連においてできあがるものであるから、当然、宿主からの規制を受ける。それで、弱毒菌が宿主防禦能低下時に病原性を発揮するにいたる際には、常在菌叢にもなんらかの生態学的変化を伴うことが予想される。

この意味で、健康成人の咽頭にみられる各種細菌の検出率だけでなく、咽頭菌叢の構成に解析を加えることが、一般呼吸器感染症や宿主防禦能低下時に発症する感染症の原因菌の予測や決定のために行なわれる咽頭培養の成績の解釈に重要な手懸りを与えてくれることになる。

本研究では、繁雑さを避けるために、嫌気性菌には言及せず、好気性菌のみを対象として、健康成人の咽頭菌叢の構成を種々の観点から眺めてみた。咽頭には、腸管内と同様に嫌気性菌の方が好気性菌よりもはるかに多数存在している⁸⁾ので、ここで述べる咽頭菌叢は菌叢の全貌ではなく、その一部にすぎない。

培養に際して、図3に示したような菌相互の干渉がみられることがあるかもしれない。ある菌が他に排除あるいは増殖抑制といった作用を及ぼしたり、*Proteus*群のように遊走して平板所見を読みとることが不可能なことも起こりうる。それで本研究では分離培地の種類を増すことにより、できるだけ咽頭における好気性菌の全貌を知るように努めた。

健康成人の咽頭菌叢を構成する菌種には、好気性菌すべてが菌叢の構成に与かるものではなく、多少の季節的差異はあつても一定の範囲があり、菌叢を構成する菌種の多寡にも一定の傾向がみら

Fig. 3. Inhibition of growth of *Staph. aureus* and *N. catarrhalis* by *Ps. aeruginosa*. All of these strains presented above were isolated from the same throat culture on a patient with acute leukemia.

れた。このことは、Rosebury⁹⁾が多数の研究者の成績を調査した結果からも窺い知ることができる。従来より咽頭培養が対象としてきた β -Streptococcus, *D. pneumoniae*, *C. diphtheriae*や*N. meningitidis*は健康人に全く検出されないか、検出されてもその割合は低かつた。さらに、検出された β -Streptococcus, *D. pneumoniae*では、分離平板で占める割合が他の菌でみられた検出率が低いと分離平板上でも数少ないという傾向は認められなかつた。これら2菌種は病原性の確立された菌でもあり、健康人に認められた場合には注目を要するかも知れない。

健康人の咽頭菌叢の構成には、少なからず季節的変動が認められたが、本質的には性別、年齢や喫煙による差異はなかつた。健康成人咽頭菌叢は、夏期に性別、年齢や喫煙による差異が認められず、分離された菌種総数や一人あたりの健康人から分離された菌種数の上でも冬期に比べて多少とも簡潔になつている。それで、季節的には、夏期咽頭菌叢が最も基本的な様相を呈すると思われる。表11に冬期と夏期に高頻度に分離される菌に

Table 11. Presumed representative composition of pharyngeal flora in healthy subjects.

1) Winter Series		2) Summer Series	
Non-smokers N = 124		Non-smokers N = 72	
Organism*	Composition**	Organism*	Composition**
<i>α-Streptococcus</i>	+++	<i>α-Streptococcus</i>	+++
<i>Neisseria</i>	+++	<i>Neisseria</i>	+++
(A) <i>γ-Streptococcus</i>	++	(A) <i>γ-Streptococcus</i>	+++
<i>Micrococcus</i>	++	<i>Micrococcus</i>	++
<i>H. parainfluenzae</i>	++ or +++	<i>Corynebacterium</i>	+
<i>Corynebacterium</i>	++	-----	
<i>Staph. aureus</i>	(+)	(B) <i>H. parainfluenzae</i>	++
(B) <i>H. influenzae</i>	++		
<i>Lactobacillus</i>	(+)		

* : Incidence in percent of positive subjects

A : 80 - 100 %, B : ≥ 60 %

** : Most frequently encountered grade

ついて、その分離平板上で最もよくみられる量的割合を示した。両時期における代表的菌叢とも考えてよいであろう。

夏期菌叢は、性別、年齢や喫煙による差異が認められなかつたのに比して、冬期菌叢は、老令化や喫煙により *Staph. epidermidis* の検出率が高まる傾向を示した。しかし、これは、*Staph. epidermidis* の検出率に冬期と夏期とで変化がみられないのに、*Staph. aureus* の検出率が冬期に高かつたために、これら2菌種の間に著明な細菌干渉現象¹⁰⁾がみられたにすぎないとも考えられた。冬期の非喫煙群の年齢的差異では、これら2菌種のうち *Staph. epidermidis* にのみ検出率に有意の差がみられたが、*Staph. aureus* は、検出率比較で青、壮年層に高かつた。また、喫煙の有無による差異で、これら2菌種の間に著明な干渉現象が観察された。それで、冬期には老令化や喫煙が、これら2菌種の干渉の際、*Staph. epidermidis* の定着を有利に導く因子と考えられた。老令層の喫煙者でこのことを検討すれば、さらに明確になるはずであるが、対象となる人数が少ないため確認することができなかった。また、菌相互の関係については、*Lactobacillus* と *Candida* の間に共存の関係がみられた。Youngら¹¹⁾によると、*Lactobacillus* は *Candida* と共

存することにより発育が促進されるが、その結果生ずる乳酸は、反対に *Candida* の発育を阻止すると述べている。

非喫煙群で、冬期と夏期ともに見い出された菌種においても、その検出率に季節的に有意の差の認められたものが5菌種あつた。そのうちの4菌種は夏期に検出率の減少を示したが、*Klebsiella* のみが夏期に検出率の上昇をみた。*Haemophilus* 属の減少が *Staph. aureus* の減少に伴つてみられた。*Haemophilus* 属の衛星現象は、血液平板上で各種細菌の集落周囲に観察されるが、*Staphylococcus* 属の場合に著明にみられるので、両菌属の菌が検出率の上で同じ動態を呈するかのように見えるとはいへ、本研究での培養成績の推計学的処理から有意の関係を見出しえなかつた。また、夏期における *Klebsiella* の検出率の上昇は、夏期に菌叢が簡潔になるため、菌相互の間関係も複雑さが除かれ、少数存在して検出されやすくなるのではないかと考えられる。

本質的には、性別、年齢、喫煙といった因子の影響を受けないと考えられる咽頭菌叢が冬期に複雑さを多少とも呈する理由として、冬期の気象や生活様式といった季節的条件が生体、ひいては菌叢の生態に影響を及ぼすからであろうと考えてい

る。

また、*H. influenzae*は*D. pneumoniae*と交互に出現することが多いとの報告¹⁸⁾もみられるが、冬期と夏期の咽頭培養や週的変動調査での培養で同時に出現するものも少なからずあつた。さらに、検出率の季節的変動でも、*H. influenzae*が、夏期は冬期に比べて有意の減少を示したのにかかわらず、*D. pneumoniae*の検出率は両季節ともほぼ同じであつた。

咽頭菌叢の構成が堅牢であるか否かは、感染防禦の点で極めて重要なことである。咽頭菌叢の週的変動の有無から菌叢の堅牢性に検討を加えてみた。毎週同時に健康成人に実施した咽頭培養の成績で、健康人の咽頭菌叢を構成する菌種数の週的变化はほとんどみられず、また、咽頭培養で分離された菌種数は、各健康人ともほぼ同じであつた。さらに、咽頭菌叢を構成する菌種が固定的なものであるか否かについての検討で、 α -*Streptococcus*, *Neissera*, γ -*Streptococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*の5菌種が固定的菌叢で、次いで、かなり定着性の強い*H. Parainfluenzae*, *Staph. aureus*が認められることが多かつた。健康人咽頭菌叢は、上記5菌種を固定的菌叢として通常2～4種の菌が流動的に出入することが示された。よつて、咽頭菌叢は、ある範囲内の流動的部分と固定的部分を有し、全体として堅牢性を維持していると考えられた。

抗生薬投与が咽頭菌叢の構成に及ぼす影響については、従来、投与薬剤に感性を示す菌の減少と耐性を示す菌の増加がみられるものの、投与終了後すみやかにもとの菌叢に回復すると考えられてきた。本研究で使用したAB-PCの場合でも、投与後消失をみたのは感性を示す菌であり、出現したのは耐性を示す菌であつた。そして、投与終了直後の菌叢変化は、みかけ上、すみやかに回復した。しかし、詳細に検討を加えてみると、図1に示したように、AB-PC投与を受けた健康人の咽頭菌叢を構成する菌種数の週的变化は、投与終了時にみられず、投与終了後1週目に菌種数の増加を

みた後、投与終了後2週目にもとに回復しているが、投与終了後4週目から再度増加をきたしている。つまり、抗生薬投与によりおこる菌叢の変化は、一旦、みかけ上の変化が回復するようにみえるが、その変化は少なくとも投与終了後6週目以上続くと考えられた。菌種のうへでは、投与終了後出現した*Staph. epidermidis*や腸内細菌と類似菌は短期間で消失するが、週を経るごとに、*Candida*, *Lactobacillus* *Haemophilus*の増加がみられたことが特徴であつた。

呼吸器感染症で原因菌を決定することは、臨床細菌学の分野で最も困難な問題の一つである¹⁹⁾。咽頭培養から下気道の主要病原菌を想定することもある程度可能である¹⁴⁾。最近、GNRによる肺炎が宿主防禦能の低下した患者に増加の傾向にある²⁾。こうした患者の咽頭には、数種類のGNRが見いだされることも希でない¹⁵⁾ため、原因菌の決定に困惑を覚える。この際、血中抗体価を手懸りに原因菌の決定ができれば簡便なことである。本研究では、咽頭にGNRが定着していると考えられる健康人について、そのGNRの生菌と加熱菌に対する血中抗体価を測定したが、これら抗原に対する抗体を有している健康人をみいだしえなかつた。この事実、咽頭に存在するGNRに関する限り、その抗体価がみい出されれば、少なからず病因的意義を有するということであり、さらに、抗体価の推移も追求できれば、原因菌との決定も可能になると考えられる。

結 論

金沢市在住の満15～69才の健康人 167名を対象に、咽頭菌叢の構成について種々の観点から解析を加えた。その成績は以下のように要約することができた。

- 1) 健康成人の咽頭菌叢を構成する菌種の範囲と量的多寡に一定の傾向がみられた。
- 2) 咽頭菌叢の構成は、本質的には、性別、年齢や喫煙に左右されないと考えられた。
- 3) 健康成人の咽頭菌叢は、固定的菌叢と流動的菌叢からなりたち、全体としての堅牢性を維持

していると考えられた。

4) 冬期は、分離菌種の範囲や健康人一人あたりの分離菌種数のみならず、各菌の検出率が夏期よりも増大する傾向を示した。

5) 冬期菌叢の構成には、老令や喫煙の影響ならびに菌相互の関係が複雑に作用しあっていることが示唆された。

6) 喫煙群の菌叢構成は、非喫煙群のものより季節変化に安定なようであった。

7) 夏期菌叢は、その簡潔さから、季節的に最も基本的な菌叢構成を呈すると考えられた。

8) 抗生薬 (ampicillin) による菌叢構成の攪乱は、流動的菌叢に著明にあらわれ、みかけ上の変化が回復しても、さらに引き続くことが示された。

9) 咽頭にグラム陰性桿菌を有する健康成人には、これに対する血中抗体価の上昇を認めなかった。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜わった順天堂大学医学部臨床病理学教室小酒井望教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 小酒井望：臨床細菌学の将来，臨床病理，22：265～268，1974。—2) 舟田 久，服部絢一：終末感染，臨床と研究，51：3075～3083，1974。—3) Rosebury, T.: Microorganisms Indigenous to Man. McGraw-Hill, New York, 1962。—4) 舟田 久，服部絢一，小酒井望：急性白血症における敗血症起炎菌の検索について，第48回日本伝染病学会総会口演。—5) Matsuba, K. et al.: The normal values of 15 kinds of plasma proteins of the Japanese people. J. clin. Chem. 1: 70～79, 1971。—6) 小酒井望：臨床検査技術講座，細菌学，金原出版，東京，1970。—7) Cowan, S.T. and Steel, K.J.: Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, Cambridge, 1970。—8) Rogosa, M. et al.: A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. J. Bact. 62: 132～133, 1951。—9) 舟田 久，吉田 喬，佐賀 努，服部絢一，浦知恵子，小酒井望：急性白血症に合併した *Aeromonas hydrophila* 敗血症の2例，日内会誌，63：1318～1329，1974。—10) Ribble, J.C. et al.: Bacterial interference in chick embryos. J. clin. Invest. 46: 446～452, 1967。—11) Young, G. et al.: Interactions of oral strains of *Candida albicans* and *Lactobacilli*. J. Bact. 72: 525～529, 1956。—12) Zinnemann, K.: *Haemophilus influenzae* and its pathogenicity. in Ergebnisse der Mikrobiologie. Immunitätsforschung und Experimentellen Therapie, Springer-Verlag, Berlin, 1960, pp. 307～368。—13) 小酒井望：感染症の原因菌と検査法の問題点，診断と治療，60：708～732，1972。—14) 上原すず子，寺島 周，野本泰正：小児咽頭細菌叢とその問題点，小児科，8：1090～1101，1967。—15) Johanson, W.G. et al.: Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gram-negative bacilli. New Engl. J. Med. 281: 1137～1140, 1969。