

腸内細菌叢と感染

慶応義塾大学医学部小児科

城 裕 之, 楠 本 裕
佐 藤 吉 壮, 老 川 忠 雄

Clostridium difficile (以下C. difficile) は偽膜性腸炎や新生児の壊死性腸炎の原因として知られているが, 新生児・乳児に無症候性キャリアーが多数存在するという報告もあり, 腸内細菌叢におけるC. difficile の意義については不明な点が多い。

今回, 私共は正常新生児及び低出生体重児について, 糞便中のC. difficile の保有率を検討した。また, 関連病院の新生児室で発生した下痢症に対し, 生菌剤を投与し良好な結果を得たので, その際の腸内細菌叢の動態についても併せて報告する。

対 象・方 法

昭和59年2月~5月に慶応義塾大学病院で出生した正常新生児77例について退院当日の糞便を採取し, CCF A培地に接種し嫌気培養を行った。C. difficile が分離された検体について, ラテックス凝集テストを用いてエンテロトキシンを測定した。また, 低出生体重児11例についても同様の検査を週に1回行った。

結 果

正常新生児77例中20例(26.0%)にC. difficile が分離された。経産分娩では69例中17例(24.6%), 帝王切開では8例中3例(37.5%)に分離された。(表1)

エンテロトキシンはC. difficile が分離された20例中4例(20%)に検出され, 経産分娩では17例中3例(17.6%), 帝王切開では3例中1例(33.3%)に検出された。(表2)

糞便1g中の菌数は $10^2 \sim 10^7$ cfu/gまでに分布し, C. difficile が分離された例の25%が, 10^5 cfu/g以上を示した。C. difficile の菌数とエンテロトキシンとの間には, 特

に関連は認められなかった。(図1)

低出生体重児では11例中4例に, C. difficile が分離されエンテロトキシンが検出されたのは, 1例のみだった。生後1週では11例中1例のみにC. difficile が分離されたが, 生後3週から5週では9例中4例に分離された。

(表3)

考 按

今回の検索で, 正常新生児の約26%がC. difficile を腸内細菌叢として保有していることが明らかとなった。正常新生児の保有率については, アメリカでは0~30%という報告があるが, 今回の結果はその範囲内に相当した。C. difficile の感染経路については, 帝王切開で8例中3例から分離されたことや, 低出生体重児では入院期間の長い症例ほど, 分離される割合が高いことから, 新生児室での水平伝播による可能性が示唆された。また, C. difficile が分離された例の20%にエンテロトキシンが検出されたが, 全例無症状だった。この理由として, トキシンの量の問題, 腸粘膜のリセプター感受性の問題, トキシシンが不活化されている可能性等が考えられるが, その詳細は不明である。

次に, 関連病院の新生児室内で流行した下痢症に対し, 生菌剤を投与し腸内細菌学検索を行ったので報告する。

対 象・方 法

昭和57年6月に関連病院小児科で, 未熟児を含む10例に下痢が発症した。サルモネラ菌, 赤痢菌, キャンピロバクター, 病原大腸菌, ロタウイルスについて, 検査を行ったが何れも陰性だった。10例中8例に生菌剤としてBBG-01を投与し, その内3例について腸内細菌叢の検索を

行った。C. difficile については、エンテロトキシンの他にHela細胞を利用してサイトトキシンも測定した。

投与した生菌剤BBG-01は、1g当り 1×10^9 個のB. breve 4006を含有する顆粒状ビフィズス菌製剤で、各症例に対して1日3gを連日投与した。

結 果

(図2)症例1は心室中隔欠損・心不全の2カ月の男児で、2902gで出生し生後8日にE. cloacaeによる敗血症・髄膜炎に罹患したため、抗生剤投与が開始された。生後40日頃より1日5~8回の下痢が出現し、生後70日頃粘液顆粒状便が1日1~3回排泄されている時期に、抗生剤と併用してBBC-01が投与された。BBG-01投与後、数日で便性は改善し、全身状態も良好となった。

BBG-01投与後2日目(6月6日)の腸内菌叢(図3)は、総菌数が 1.4×10^8 cfu/gと低く、最優勢菌としてYeastが存在し、通常、優勢菌として存在するBifidobacterium, Bacteroidaceaeは $10^3 \sim 10^5$ cfu/gと減少し、明らかな異常菌叢を呈している。投与後4週目(7月4日)の菌叢では、最優勢菌として存在していたYeastは消失し、代ってBacteroidaceae, Bifidobacteriumが主要構成菌種となり、ほぼ健康児の状態に回復した。投与されたB. breveもほぼ常在のBifidobacteriumと同じレベルまで増加していた。

一方、C. difficileは下痢発症時(6月6日)には検出されず、下痢が改善した7月4日に 3.7×10^6 cfu/gという高い菌数が検出された。トキシンは6月12日エンテロトキシンが、7月4日エンテロトキシンとサイトトキシンが検出された。

症例2(図4)は生後13日の新生児で、3452gで出生し、生後1日目に 38°C の発熱が出現したため、敗血症を疑い抗生剤とガンマグロブリンが投与された。血液培養が陰性のため、抗生剤の投与を中止した所、下痢が発症し1日3~9回の水様便が認められた。6月7日、下痢発症後5日目よりラクトレスミルグと併用してBBG-

-01の投与が開始され、投与後数日で便性及び臨床症状の改善が認められた。

下痢発症時(6月6日)の菌叢(図5)は健康児のものと同様だったが、下痢軽快時(6月12日)には総菌数をほぼBifidobacteriumが占める「Bifidus flora」が形成された。一方、C. difficileは下痢発症時、軽快時共に 10^6 cfu/g検出され、トキシンは下痢発症時にエンテロトキシン、サイトトキシン共に陽性だったが、下痢軽快時には両者共に陰性となった。

症例3(図6)は生後8日の新生児で、2192gで出生し、生後6日(6月5日)より突然、粘液、顆粒を混入する軟便を1日3~7回排泄したため、6月7日よりBBG-01の投与が開始され、開始後数日で便性及び臨床症状の改善が認められた。

下痢発症時(6月6日)の腸内細菌叢(図7)は、Bacteroidaceae, Streptococci, Enterobacteriaceaeが優勢菌種でBifidobacteriumは 2×10^5 cfu/gと低いレベルを示した。BBG-01投与後の6月12日の腸内細菌叢は、症例2と同様の「Bifidus flora」が形成された。一方、C. difficileは下痢発症時の6月6日には検出されず、便性が改善した6月12日に 2.7×10^7 /gと高い菌数が検出され、トキシンは両日共にエンテロトキシンが検出された。

考 按

症例1は抗生剤の長期投与により、健康児の腸内に最優勢に存在するBacteroidaceae, Bifidobacterium, Enterobacteriaceaeが排除され、代ってYeastが腸内で異常増殖した菌交代現象による下痢と考えられ、BBG-01の投与が菌叢の回復に有効だったと考えられた。

症例2及び3は下痢の発症時には、殆ど健康児と同様の菌叢であり、特に症例3においては抗生剤の投与もなく、菌叢面から下痢の原因を推察することは難しいと考えられる。しかし、BBG-01の投与により下痢及び臨床症状が改善し、Bacteroidaceae, Staphyrococci, Enterobacteriaceaeが減少し、Bifidobacteriumが増加し「Bifidus flora」を形成し

たことは下痢の治癒に何らかの形で *B. breve* が関与していたものと考えられた。

今回の下痢症と *C. difficile* との関係では3例共に下痢が改善した時点でむしろ菌数が増加しており、トキシンも症例2を除いて他の2例では便性が改善した時点で検出された。症例1, 3では直接, *C. difficile* の存在と下痢とを結びつけることは出来ないが, 症例2では抗生剤投与中止後, 下痢が発症しその時点でトキシンが検出されたことから, *C. difficile* が関与していた可能性も考えられる。

結局, 今回の下痢の原因を特定することは出来

なかったが, 生菌剤の投与により新生児期においても, 下痢の改善がみられ全身状態も著しく良好となった。また, 生菌剤の有効性は腸内細菌叢の面からも明らかで, 下痢発症時の異常な菌叢が生菌剤の投与により, 速やかに改善し, *Bifidobacterium* 優勢の「*Bifidus flora*」となり, しかも投与された生菌剤が腸管内に確実に定着していることが判明した。しかし, 生菌剤と *C. difficile* との関係では増殖した *Bifidobacterium* が *C. difficile* を腸管内から駆逐するまでには至らず, 腸内細菌叢における両菌の相互関係については今後の研究が期待される。

表1

新生児(生後5日~10日)

| | <i>C. difficile</i> |
|------|---------------------|
| 経膣分娩 | 17/69 (24.6%) |
| 帝王切開 | 3/8 (37.5%) |
| 計 | 20/77 (26.0%) |

表2

新生児(生後5日~10日)

| | Toxin |
|------|--------------|
| 経膣分娩 | 3/17 (17.6%) |
| 帝王切開 | 1/3 (33.3%) |
| 計 | 4/20 (20.0%) |

表3

低出生体重児の *C. difficile* の菌数 (cfu/g)

| 週数 Case | 1W | 2W | 3W | 4W | 5W | 6W | 7W | 8W | 9W | 10W | 11W |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----------------|
| 1 | (-) | (-) | (-) | | | | | | | | |
| 2 | (-) | (-) | (-) | | | | | | | | |
| 3 | (-) | (-) | | | | | | | | | |
| 4 | (-) | (-) | 1×10^3 | | | | | | | | |
| 5 | | | | (-) | 3×10^3 | (-) | (-) | (-) | (-) | 4×10^4 | 1×10^7 |
| 6 | (-) | (-) | (-) | | | | | | | | |
| 7 | (-) | (-) | | | | | | | | | |
| 8 | | (-) | (-) | (-) | 1×10^7 | (-) | | | | | |
| 9 | (-) | | (-) | (-) | (-) | | | | | | |
| 10 | 1×10^6 | 2×10^6 | | 1×10^7 | | | | | | | |
| 11 | (-) | (-) | (-) | (-) | | | | | | | |
| Incidence | 1/9 | 1/9 | 1/7 | 1/5 | 2/3 | 0/2 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 1/1 | 1/1 |

新生児の C. difficile の菌数

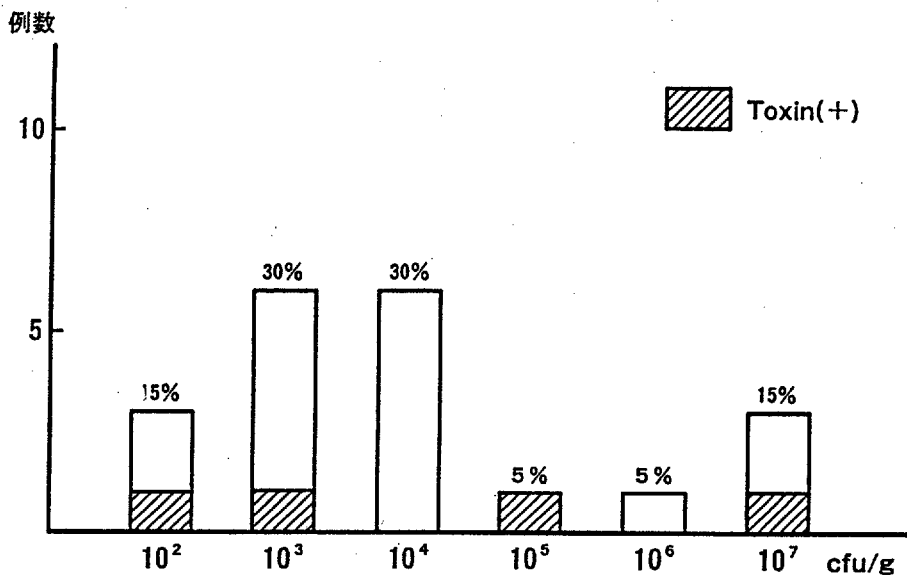


図 1

Subject M.K. (M) 2.5 mos

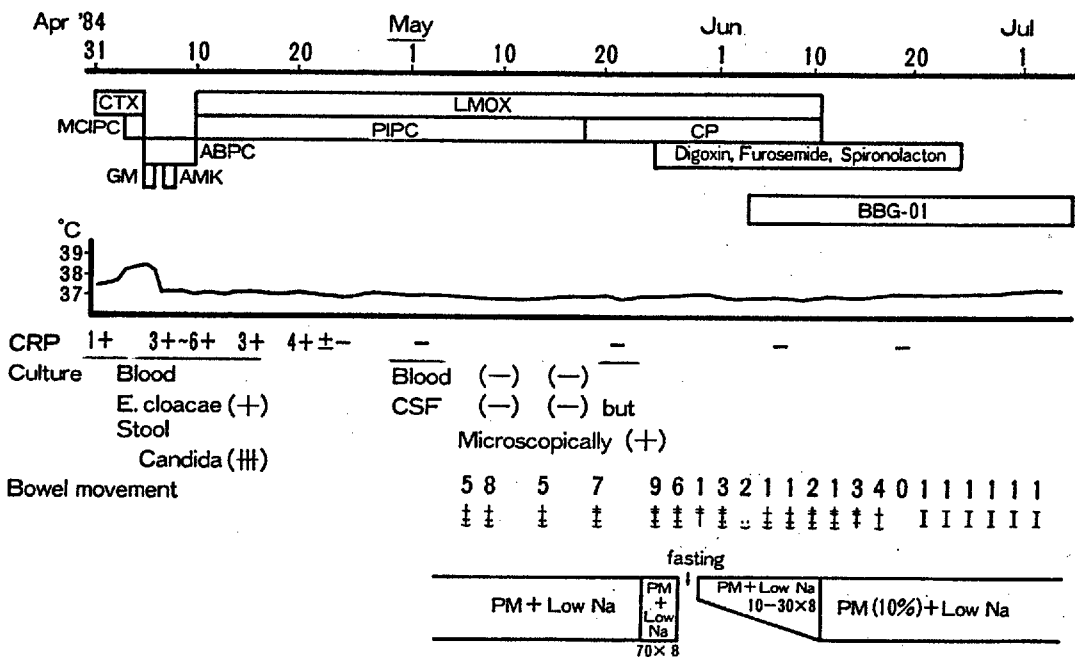
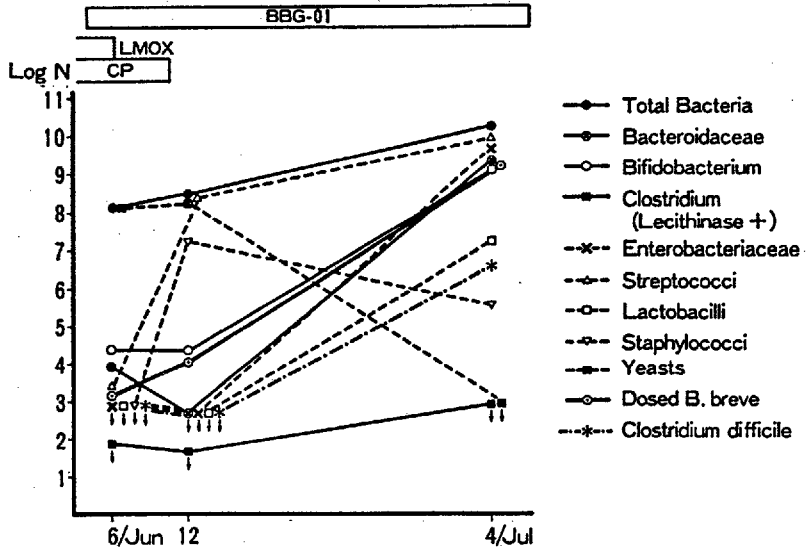


図 2

Subject M.K. (2.5 mos)

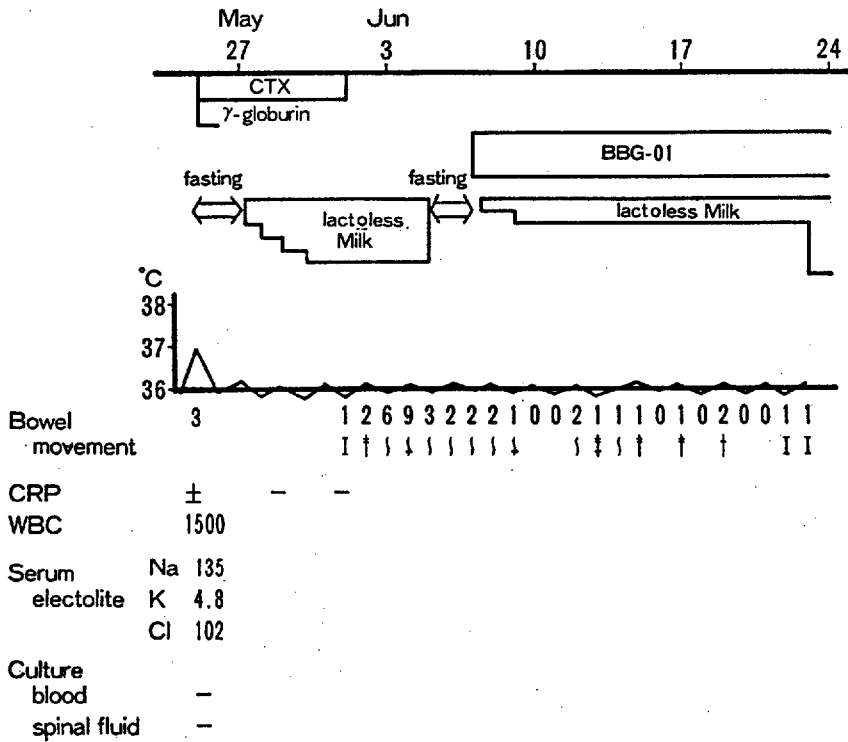


C. difficile toxin
(in stool)

| | | | |
|----|---|---|---|
| ET | - | + | + |
| CT | - | - | + |

☒ 3

Subject Y.Y. (13th day)



☒ 4

Subject Y.Y. (13th day)

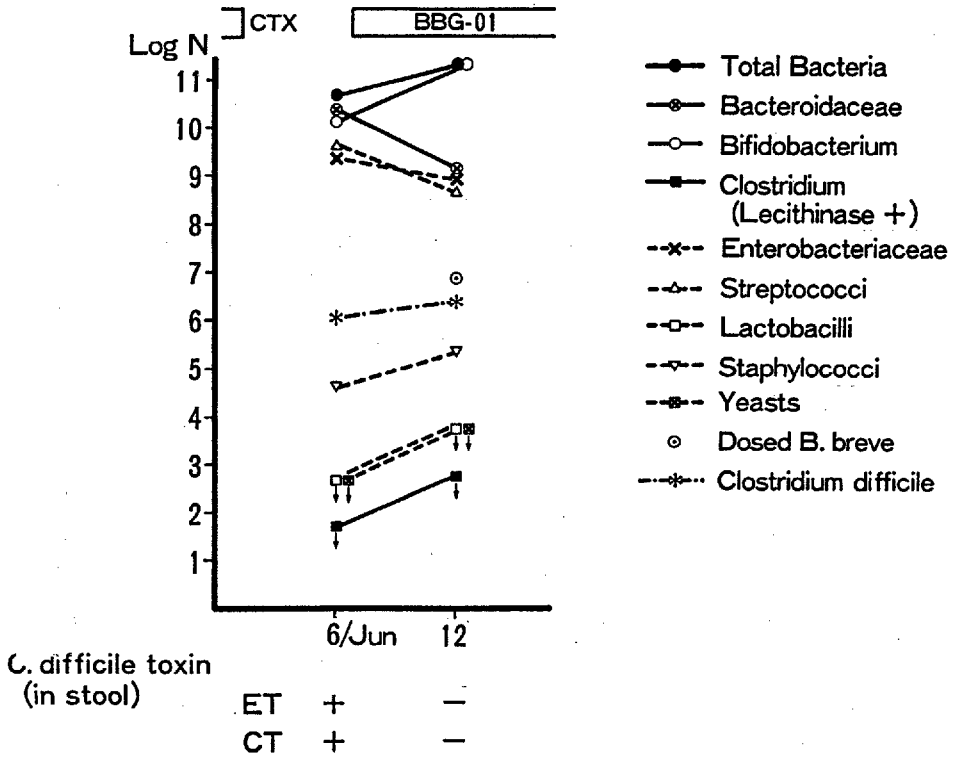


Figure 5

Subject H.O. (8th day)

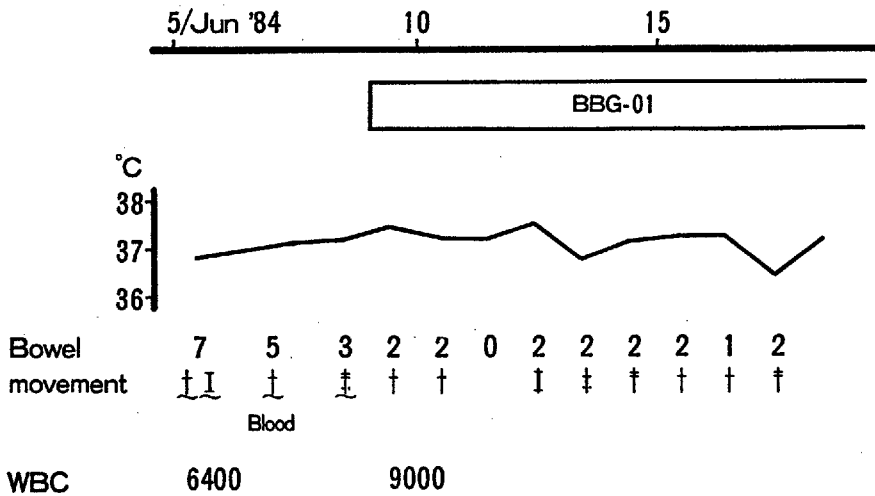


Figure 6

Subject H.O. (M) 8 th day

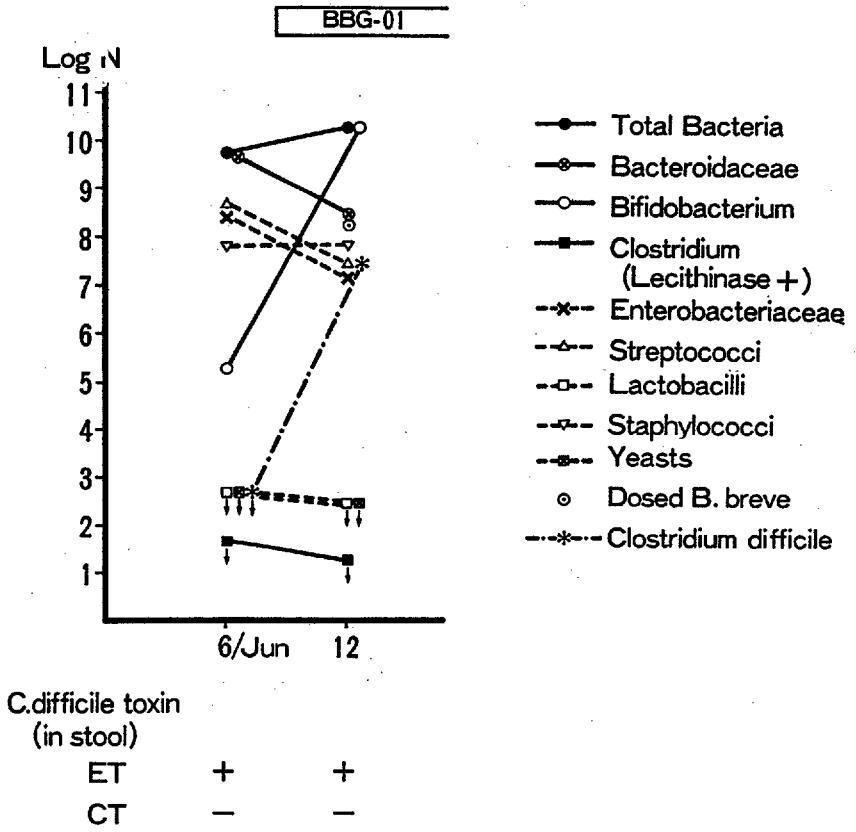
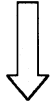
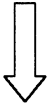


图 7



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



Clostridium difficile(以下 C.difficile)は偽膜性腸炎や新生児の壊死性腸炎の原因として知られているが,新生児・乳児に無症候性キャリアーが多数存在するという報告もあり,腸内細菌叢におけるC.difficileの意義については不明な点が多い。

今回,私共は正常新生児及び低出生体重児について,糞便中のC.difficileの保有率を検討した。また,関連病院の新生児室で発生した下痢症に対し,生菌剤を投与し良好な結果を得たので,その際の腸内細菌叢の動態についても併わせて報告する。