

腔内乳酸桿菌に関する研究

順天堂大学医学部産科婦人科学教室（主任 水野重光教授）

富 田 昭 二

概要 腔桿菌が発表されてから半世紀余を経た今日においてなお性状、細菌学上の位置づけすら不明確なのは不安定な生物学的性状に頼った分類に起因すると考え、血清による確実な同定法を確立する事は、本菌の臨床的動態を検索する上に重要な問題であるので、先人の行つた血清学的同定法に改良を加えてみることにした。

因子血清作製のための標準株は不本意ながら生物学的性状により厳選し、血清の共通抗原は抗体分画法により減退させた。

血清学的同定率は92.0%の安定を示したが、同定不能の8%が亜型か異型かは今後の研究にまたねばならない。

無差別培養における検出率は61.6%であり、型別ではⅡ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅰ型の順で高い。なお他細菌との共存率は、腸球菌、ブドウ球菌、次いで大腸菌の順である。また腔清浄度が良い程、pH値が低い程検出率は高く、疾患別でも同様の傾向を認めた。

分娩後の腔桿菌と腸球菌の出現関係では率の上では腸球菌の出現が少し早い様である。

本菌の抗生物質に対する感受性は一般に低く、腔内投与でも同様の傾向を認めた。また抗生物質投与中の腔内本菌の菌型変化ははげしい。即ち何らかの因子が加えられると変化し勝ちだが、加えられない限り殆んど変化しない。

本菌と直腸内嗜酸桿菌は生物学的、血清学的には同一視され、同一例の両菌の菌型の一致率が高い事から腔・直腸間の相互移行が推察される。また本菌とビフィズス菌は異種の乳酸桿菌である。

本菌は無糖培地においては他細菌に対して拮抗作用を示さない。

以上の事からビフィズス菌とは異種の乳酸桿であるが、直腸内嗜酸桿菌とは同一と考えられる。従つて腔桿菌なる従来の呼称は不適當で、腔内乳酸桿菌と呼ぶのが妥当と考える。

緒 言

1892年に Döderlein によつて発見された腔桿菌は、腔の自浄作用に大きな役割を演ずるものとされて以来半世紀余を経た今日まで、本菌の性状、分類については多くの発表があるがいずれも定説がなく、3型に分類するもの(Thomas¹⁾、秋穂²⁾)、4型に分類するもの(Lash & Kaplan³⁾、岡本⁴⁾、石井⁵⁾)らがある。又嗜酸桿菌との異同についても Thomas、石井は同一、Lash & Kaplan、相川⁶⁾らは殆んど同一視しているが、岡本、成沢⁷⁾の両者は全く異なるものと唱えている。

この様に諸説がみられる所以は本菌の分離培養、同定法の不備に基づくものと考えられる。しかしながら本菌が不可欠の腔内常在菌⁸⁾であることは衆知の事であり、従つてその臨床的動態を知る為には確固たる分類が必要になつてくる⁹⁾¹⁰⁾。私はこのような目的から本菌に関する

血清学的分類を試み、これに基づいて種々な条件における菌型的動態及び抗生化学療法剤の本菌への影響等を検索する事にした。

実験材料並びに実験方法

1. 実験対象

昭和38年9月より1年間に当教室外来を訪れた新患のうち、411名の患者について無差別培養を試み、251名の陽性例から分離した274株を実験対象とした。

2. 培養方法

1) 材料の採取

外陰消毒後滅菌腔鏡を使用し、出来得る限り多量の腔内容を滅菌綿棒で採取後2.0 mlの滅菌生食水にて懸濁液とし、その1.0 mlを直ちに Heim 培地¹¹⁾に移植した。

2) 培養方法

Heim 培地に移植後37°C48時間好氣的に培養し、2日間常温放置後 Zeissler 平板に1白金耳を接種し、嫌気性(黄磷法)に7日間培養して得た集落から肉眼的に異なる5集落を鈎菌して Heim 培地に純培養すると共に、Vitamin B₁₂, 1%ブドウ糖加肝臓 ブイヨンにも移植し、pH値の低下及びグラム染色により本菌である事を確認した。

3. 菌型の分類

1) 血清学的同定に使用した菌株の選択過程

本菌には標準株がなく因子血清作製に必要な菌株選定の手段として、従来の報告にある様な集落形態、糖分解による分類を試みた。

(a) 集落形態性状

従来の報告において集落形態及び糖分解による分類が最も価値があるとされて来た。即ち本菌の Zeissler 平板上の集落性状を記載したものに岡本, 石井, 秋穂らがあり, 前二者(おおむね一致するという)は4型に, 秋穂は3型に分類している。また岡本, 秋穂はpH 5.0のZ培地好気培養における集落性状で分類可能としているが, 相川はこれによつても分類は不可能であつたという。私も同様な実験を試みたが明確な分類は得られなかつた。しかし嫌気性37°C 7日間培養で以下述べる様な特徴を最もよく示した。I型: 直径4~6mm, 扁平で白緑色を呈しやゝ硬く, 辺縁不正で鋸歯状を呈し, 同心円及び放射状の皺壁を形成する。II型: 直径4~5mm円形丘状で比較的硬く, 全体として明るい茶色で同心円をなし中心程色が濃く, 中心核を有し, 時に脐窩を作り辺縁正である。III型: 直径4~5mmで円形半球状で軟かく, 黒茶色を呈し辺縁正で帯白茶色の量を有し, 中心核, 脐窩はなく表面滑沢である。IV型: 2~3mm円型丘状で比較的硬く淡茶色で辺縁正, 灰白色の量を作り時に中心核を見る。

しかしこの分類とて必ずしも一定した集落形態を示すとは限らず, むしろ亜型を示す場合も比較的多く認められた。

(b) 糖分解能

腔桿菌の糖分解に関する報告は多く, 糖分解の差異により Lash & Kaplan, 岡本, 石井は4型に, 天谷¹²⁾は6型に, 相川は5型に, 秋穂は3型に分類しているが, これらの間には関連が認められず各人により基準となるべき糖の種類を異にしている。これは本実験に従来用いられた培地がペプトン水, ブイヨン, Hiss 培地であるため成分を一定にすることが困難な為と考えられ, 私は成分を一定にすることが出来る Me 培地¹³⁾に Vi-

表1 腔桿菌の糖分解能

菌型	菌株	単糖類					二糖類		多糖類		高級アルコール	
		グルコース	フルクトース	マンノース	ガラクトース	ソルビット	スクロース	ラクトース	デキストリン	グリコーゲン	マンニト	アラビノース
I	13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	92	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	92 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	110	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	110	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II	E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	41	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	57	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	76	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	88 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	94	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	95	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	99	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III	8 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	43	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	79	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	82	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV	88 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	92 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	102	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	106	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

N/10 NaOH 消費量 0.5 ml 以下 (—)
0.6 ~ 0.9 ml (±)
0.1 ~ 1.9 ml (+)
2.0 ml 以上 (++)

tamin B₁₂ を加えたものを使用し, 集落形態により分類した63株を用い, 合計18種の糖分解能について実験を試みた²⁰⁾。成績は表1に示す様に本菌は一般に単糖類, 二糖類を分解するが, イヌリン, グリコーゲン, スルチット, ソルビット, ラムノーゼを分解しない。またこの成績から全株について一定の分解形式を得ることは困難で諸家¹⁴⁾の分類法に必ずしも一致しないが, アラビノーゼ, マンノーゼ, デキストリン, マンニト, エスクリンの5種で63株中56株に各型間にやゝ明らかな差異を認めた。

しかしながら集落形態と5種の糖分解能で同一型と同定された47株の中にも No. 3, No. 4 a, No. 9 a, No. 13, No. 37, No. 40, No. 43, No. 54, No. 88 a, No. 88 b, No. 99株の11株の様に2つの型のいずれにも属し得る性状を示すものが見られた。集落形態と糖分解との一致率は63株中86株(57.1%)であり, 両性状のみによ

表2 標準株の糖分解能

菌型	単糖類				二糖類				多糖類				高級アルコール				グルコンド
	グリセロール	アラビノース	マンノース	ガラクトース	ラクトース	マルトース	サッカロース	トレハロース	デキストリン	グリコシル	イソリギン	ソルビトール	ソルビトール	ラビニトール	アラビニトール	エスクリン	
I	++	++	++	++	++	++	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	++
II	++	++	++	++	++	++	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
III	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
IV	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

る完全な分類は不可能であつた。

(c) 抗血清作製に使用する菌株の選定方法

因子血清を作製するためには標準株の選定が必要であるが、従来最も多く用いられている集落形態による分類では前述のように亜型が多く標準株とするには難点がある。また糖分解能による成績も一率でないが、アラビノース、マンノース、デキストリン、マンニット、エスクリンの5種の糖分解能を示標として分類を行い、不本意ではあるが、その中でも最も多い分解形式を示し、集落形態と一致したものを選び、再三の反覆検査により分解形式が不動であつた No. 110株, No. 107株, No. 106株, No. A 株を選びI, II, III, IV型の標準株とした。この4標準株の糖分解形式は表2に示す通りである。

2) 抗血清の作製方法

(1) 免疫用抗原の作製

Vitamin B₁₂を加えたブドウ糖加肝臓ブイヨン培地に37°C48時間培養後、遠心分離により集菌し、滅菌生食水で3回洗滌後、10 mg/mlの菌遊液としそのまま氷室に保存した。

(2) 免疫方法

右田¹⁵⁾の免疫方法にならい Adjuvant imcomplet 5.0 ml と前記抗原 5.0 ml (50mg) を充分攪拌し、成熟家兎の背筋の4カ所に分注。週1回で4回施行、4回終了後3日目より隔日に抗原50mgを耳静脈に4回注入し、1週間後に試験採血を行い、定量凝集法により凝集価が1280倍に達した事を確認してから全採血し、血清を分離しそのまま凍結保存した。

(3) 凝集試験

スライド凝集反応⁹⁾¹⁶⁾は自家凝集が強く型別は不能であつた。一方定量凝集反応においては菌株により微弱な自家凝集を見るが、これは血清稀釈液としてpH 8.0の蒸

表3 各型血清と各型抗原の交叉的定量凝集反応

血清	抗原	10倍	20倍	40倍	80倍	160倍	320倍	640倍	1280倍
		+	+	+	+	+	+	+	+
I型血清	I	++	++	++	++	++	++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++	++	++
	III	++	++	++	++	++	++	++	++
	IV	++	++	++	++	++	++	++	++
II型血清	I	++	++	++	++	++	++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++	++	++
	III	++	++	++	++	++	++	++	++
	IV	++	++	++	++	++	++	++	++
III型血清	I	++	++	++	++	++	++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++	++	++
	III	++	++	++	++	++	++	++	++
	IV	++	++	++	++	++	++	++	++
IV型血清	I	++	++	++	++	++	++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++	++	++
	III	++	++	++	++	++	++	++	++
	IV	++	++	++	++	++	++	++	++

(+)内は吸着後の凝集価

溜水を使用する事により殆んど除去出来た。また定量凝集反応の抗体は γ -globulin 回収液 (200倍) を用い肉眼により判定した。標準株各菌型間の交叉的凝集試験は表3に示す通りである。この成績は明らかに型別による抗原の特異性を示しているとみられるが、I型血清に対するII, IV型株, II型血清に対するIV型株, III型血清に対するIV型株, IV型血清に対するI型株は比較的凝集価も高く共通抗原が存在すると推定されたので、免疫血清の共通抗原を除去する目的で、Lee & Wu¹⁷⁾, Heiderberger & Kabot¹⁸⁾, 等の抗体特異精製法即ち、同種抗原にて一度吸着せしめておいて、より特異的な抗体を精製し、更に異種抗原により吸収試験を行つた結果、非特異反応の減退に成功したので、この γ -globulin 回収液を用い定量凝集法により同定した。

(4) 同定法

前述の γ -globulin 回収液 (pH 8.0の蒸溜水で200倍に稀釈) 2.0ml に1 mg/ml 蒸溜水 (pH 8.0) 菌浮遊液を0.05ml あて滴下混和し、37°C 2時間放置後遠沈 (1分間3000回転で5分間) を行い、これを軽く振蕩して肉眼により凝集の有無を判定した。即ち凝集のないもの (一), 明瞭な顆粒の見られないもの (±), 顆粒状凝集を認めたもの (+), 大きな顆粒を呈したもの (++)、幕様剥離をしたもの (++) とし、(+) 以上を陽性とした。

(5) 抗血清の使用成績

前法により63株を同定した所58株 (92.0%) が同定さ

表4 抗血清の使用成績 (実験対象63株)

菌型	菌株数	百分率
I型	9	13.6%
II型	23	36.6%
III型	15	23.8%
IV型	11	17.4%
同定不能	5	8.0%

れた。菌型の内訳はⅠ型が9株(13.6%),Ⅱ型が23株(36.6%),Ⅲ型が15株(23.8%),Ⅳ型が11株(17.4%)の成績を得た(表4参照)。従来の生物学的分類に比し,本法の方が適格に分類が出来る。血清学的に同定された各型株の糖分解能を見るとⅠ型では全株エスクリンを,Ⅱ型ではアラビノース,マンノースを,Ⅲ型ではデキストリンを,Ⅳ型ではマンニトを分解する株が多く,他の糖については不定の事が多い。また血清学的に同定不能の株についての糖分解能は No. 4 a, No. 43株の様に不明確なものや,逆に No. 41株の様に比較的明確なものとあり不定であった。

実験成績

I. 臨床的事項

A 検出率

1) 無差別培養における検出率

昭和38年9月より1年間にわたり411名の新患について培養し,251名(うち23名より異つた2株を検出)より274株を検出した。即ち本菌の検出率は61.6%である。

2) 型別検出率

検出274株について血清学的同定法を行つた成績はⅠ型36株(13.1%),Ⅱ型94株(34.3%),Ⅲ型68株(24.0%),Ⅳ型52株(18.9%)で計250株(91.2%)を同定し得たが,24株(8.8%)は同定不能であった。

3) 腔内他細菌と検出率の関係

表5 腔桿菌と腔内他細菌との関係
腔桿菌陽性例(89例)中

菌種	例数	百分率
腸球菌	20	22.4%
大腸菌	14	15.7%
ブドウ球菌	18	20.2%
トリコモナス	14	15.7%
カンジダ	4	4.4%
ピブス	3	3.3%

表5に示す様に新患145例について,腔桿菌を中心として6種の細菌を同時に併行検索した。腔桿菌陽性例に対する各菌の共存率は,腸球菌22.4%,ブドウ球菌20.2%,大腸菌,トリコモナスが各15.7%,カンジダ,ピブスが各3.3%であった。

B 各種条件下における腔桿菌の動態

1) 検出率

(1) 疾患別検出率

374例中220例(58.8%)に検出されたが表6に示す通りⅠ群では検出率は最も低く,次いでⅡ群であり,Ⅲ

表6 疾患別検出率(374例)

	疾患名	患者数	腔桿菌検出例	検出率
Ⅰ群	膣トリコモナス症	36	20(52.6%)	48.8%
	膣カンジダ症	14	6(42.8%)	
	上二者の合併症	8	2(25.0%)	
	その他	28	14(50.0%)	
	機能性出血	52	32(61.6%)	
Ⅱ群	不全流産	16	14(87.5%)	58.3%
	子宮腔部ビラン	50	26(52.0%)	
	頸管カタル	6	4(66.6%)	
	切迫流産	6	2(33.3%)	
	子宮頸癌	2	0(0.0%)	
Ⅲ群	子宮筋腫	24	10(41.6%)	64.2%
	卵巣のう腫	14	10(71.4%)	
	付属器炎	10	4(40.0%)	
	卵巣機能不全	22	16(72.7%)	
	頸管不全	12	12(100.0%)	
	更年期障害	8	2(25.0%)	
	子宮發育不全	4	2(50.0%)	
	不妊症	36	32(88.8%)	
	子宮後屈	4	4(100.0%)	
	外陰炎	4	2(50.0%)	
	膀胱炎	10	2(20.0%)	
	外妊	4	4(100.0%)	
	月経困難症	2	2(100.0%)	

群では平均検出率より高い。

(2) 腔清浄度との関係

280例について検索したところ,腔清浄度Ⅰ°で66例中56例(84.2%),Ⅱ°aで36例中30例(83.3%),Ⅱ°bで32例中22例(68.7%),Ⅱ°cで26例中16例(61.5%),Ⅲ°では120例中42例(35.0%)の検出を示し,清浄度の良いもの程高い検出率を示した。

(3) 腔内pHとの関係

322例について調べたところ, pH 4.4迄は152例中10例(72.3%), pH 4.6~4.8で60例中36例(60.0%), pH 5.0~5.4で76例中42例(56.8%), pH 5.6以上では64例中16例(24.3%)の検出率でpH値の低いもの程検出率は高い。

(4) 妊娠との関係

162例中121例(74.6%)より検出され,妊娠前半で70%,後半で84.6%の検出率を得た。

(5) 年齢との関係

328例について検査したところ,20才迄では15例中9例(60.0%),21~30才では181例中120例(66.2%),31~40才で75例中47例(62.6%),41~50才では43例中27例(55.5%),50才以上で8例中1例(12.5%)の検出率であり,50才以上では明らかに低くなる。

2) 動態

(1) 分娩後の腔桿菌並びに腸球菌の出現とその相互関係

40例の産褥婦について分娩翌日より隔日に7日迄腔内容を培養し,腔桿菌及び腸球菌の検索を併せ行つた。

a. 分娩後の腔桿菌の出現:産褥第7日迄に40例中37

昭和41年12月1日

富田

1399—21

例(92.5%)に検出された。内訳は分娩後24時間以内が7例(17.5%), 2~3日で15例(37.5%), 4~5日で10例(27.0%), 6~7日で5例(12.5%)となり, 分娩後2~5日迄の間に25例(62.5%)に検出された。尚妊娠中絶後の17例についても同様な実験を試みたが同様の傾向を示した。

b. 分娩後の腸球菌の出現: 40例中30例(75.0%)が7日迄に検出されている。即ち分娩後24時間以内が7例(23.3%), 2~3日で16例(53.3%), 4~5日で6例(20.0%), 6~7日で1例(3.3%)であり, 分娩後3日迄に20例(76.0%)に検出され, 脛桿菌に較べて出現時期が早い。

c. 分娩後の脛桿菌と腸球菌の出現関係¹⁹⁾: 40例中7日目迄脛桿菌だけが検出されたのは8例(20.0%), 腸球菌だけの検出が2例(5.0%), 両菌同時検出17例(42.5%)の中分娩後24時間以内3例, 2~3日が14例, 腸球菌が先に出現し次いで脛桿菌が出現したのは10例(25.0%), いずれも検出されなかつたのが3例(17.5%)であった。尚7日目迄両菌が共存していたものは全例中3例に認められた。

(2) 抗生化学療法剤投与と脛桿菌の消長

a. 各種抗生物質並びにフラン剤の試験管内発育阻止試験

表7 各種抗生化学療法剤の試験管内発育阻止試験

薬剤名	MIC	I	II	III	IV
PM	mcg/ml	>500	>500	>500	>500
CP	mcg/ml	62.5	62.5	62.5	62.5
TrM	u/ml	>5000	>5000	>5000	>5000
KM	mcg/ml	>1000	>1000	>1000	>1000
TC	mcg/ml	25.0	25.0	25.0	25.0
PC	u/ml	62.5	62.5	62.5	62.5
DF	mcg/ml	31.2	31.2	31.2	31.2

表7に示す通り Pimaricin (PM), Chloramphenicol (CP), Trichomycin (TrM), Dihydromethyl Furazirone (DF), Tetracycline (TC), Kanamycin (KM), Penicillin (Pc) の7種について脛桿菌の試験管内発育阻止試験を行つた。PM, TrM. は N/10 NaOH, をDFは Dimethylformamid を, その他は蒸留水を溶媒として用いた。実験方法は上記7種の薬剤を表7に示す様な各段階の濃度に含有させた Heim 培地に, 48時間培養後の菌液1白金耳を移植し, 48時間培養後最小発育阻止濃度を測定し, Z培地でさらに嫌氣的4日間培養して

確めた。なお上記溶媒を同濃度含有の培地での本菌の発育は良好であつた。

実験結果を検討すると, 一般に本菌は使用薬剤に対し感受性が弱く, DFではI, II型株が31.2mcg/mlで発育阻止を見たが, 抗生物質では殆んど発育阻止作用が見られず²⁰⁾, 最もよい感受性薬剤がCP, PCのそれぞれ62.5 mcg/ml という成績に過ぎない。

b. 抗生物質, フラン剤の腔内投与と脛桿菌の消長

近年新抗生物質が次々と現われ, 産婦人科領域でも腔坐薬への応用が漸次試みられている。従つてこれら抗生物質が脛桿菌に対し抗菌的に作用するとすれば, 婦人保健上好ましくない結果を来すと考え, 前実験と併せて抗生物質並びにフラン剤の腔内投与を32例に試み, 脛桿菌の消長を観察し検討を加えた。

使用薬剤: PM., CP., TrM., Tc., KM., DF. の6種を使用し, 1回投与量は TrM. が50000単位, 他はすべ

表8-1 抗生物質及びフラン剤の腔内投与と脛桿菌の消長

症例	投与回数	1	2	3	4	5	6	7	中止 4日後
PM	1	IV	II	II	II	IV	IV	4.2	I*
	2	(-)	II			II	II	5.0	II*
	3	IV	IV	II	II	IV	IV	4.2	I*
	4	IV	II	II	II	II		4.6	II*
	5	IV	II	II	IV	II	IV	4.2	I*
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	IV	4.6	II*
CP	1	IV	II	II	II	IV	IV	5.0	II*
	2	IV	II	II	II	IV	IV	4.8	II*
	3	IV	II	II	II	IV	IV	4.8	I*
	4	IV	II	II	II	IV	IV	5.4	II*
	5	IV	II	II	II	IV	IV	5.0	II*
	6	IV	II	II	II	IV	IV	5.0	II*
TrM	1	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.2	I*
	2	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.0	I*
	3	IV	IV	IV	IV	IV	IV	5.2	II*
	4	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.8	II*
	5	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.0	I*
	6	IV	IV	IV	IV	IV	IV	5.0	II*
KM	1	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.8	II*
	2	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.2	I*
	3	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.6	II*
	4	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.8	II*
	5	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.6	II*
	6	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.8	II*
TC	1	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.4	I*
	2	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.4	I*
	3	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.4	I*
	4	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.4	I*
	5	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.0	I*
	6	IV	IV	IV	IV	IV	IV	5.6	II*
DF	1	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.0	I*
	2	IV	IV	IV	IV	IV	IV	5.6	II*
	3	IV	IV	IV	IV	IV	IV	5.6	II*
	4	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.2	I*
	5	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.0	I*
	6	IV	IV	IV	IV	IV	IV	4.2	I*

て25mgとした。

実験方法：薬剤投与前に腔桿菌が検出された例を選び、薬剤投与は連日で5～7回行い、腔桿菌の培養分離は、投与中の毎日と投与中止後4日目に行い、血清学的同定により菌型の変動及び本菌の消長を観察した。

実験成績：表8～1に示す通りCP投与例においては投与1～3回で全例に腔桿菌の消失を見たが、PM、KMでは全例消失せず、TrM., TC., DF. において各1例ずつ消失を認めただけであった。ただPMの症例6（腔カンジダ症）の様に投与中腔桿菌の出現を見た例もある。又菌型の変動では表8～2に示す通り各薬剤とも（CP

表8—2 抗生化学療法剤の腔内投与に伴う菌型変化

		投与中の変動		投与前後の比較	
		変動は却	変動は増	同型	異型
PM	5例	3	2	4	1
CP	6例	2	1	3	2
TrM	6例	4	1	4	2
KM	5例	4	1	3	2
TC	4例	3	0	2	2
DF	6例	4	2	4	2
計	32例	20	7	20	11

による消失例を除く）投与途中での菌型の変動は激しく、多くは1～2回投与により起こり、1回投与で消失したCPの3例、TrM., TC. の各1例を除いた27例中20例（74.0%）に変動を認め、又投与前と投与後での菌型の異同はCPにおける投与中止後も陰性の1例を除いた31例中20例（64.5%）が同型であった。総じて投与途中での菌型の変動は著しいが、投与前後での変動率は低い。尚無処置腔の連続培養5例では1例に変化を認めただけであった。

（3）腔桿菌の定着性について

本菌は腔内において各個人により菌型が固定的なものであるか否かを知る意味で次の実験を行った。

a. 妊婦の4週間隔4回追跡時の菌型変化

妊婦25例を対象とし4週毎に4回培養分離同定を行つ

表9 腔桿菌の変動
（妊婦4週間隔の4回追跡25例）

変動例	才1回	才2回	才3回	才4回
1	II III	III IV II	I II	III
2	II	III	III	III
3	III	II	I	IV II
4	I	II	II	IV

た所、25例中4例（16.0%）に菌型の変化を認めたが、大部分の例では変化を認めなかった。菌型変化の様相は表9に示す。

b. 抗生化学療法剤の腔内投与中及び投与前後の菌型変化

前述した様に薬剤投与中では74.0%の高率で変動を示したが、投与前後の比較では32例（1例は投与後も陰性）中11例（35.5%）に菌型変化が見られ、その中4例から同型菌と異型菌の2株が検出されている。又投与途中短期間出現し消失したものの菌型別頻度はⅢ型、Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅳ型の順で多かった（表8～1、2参照）。

c. 分娩前後での菌型の変化

表10 分娩前後における菌型の比較（24例中）

症例	分娩前菌型	分娩後菌型
1	II	III
2	II III	III
3	III I	I
4	II	I
5	IV	IV II
6	IV	I
7	III	II
8	I	II

分娩前に存在した腔桿菌と分娩により一時消失し、分娩後再出現したときの腔桿菌との菌型の比較を24例について試みた（表10参照）。

24例中8例（33.3%）に分娩前と異型の腔桿菌が出現した。

Ⅱ. 基礎的事項

1) 腔桿菌の耐熱性及び生存期間

（1）耐熱性

使用菌株はⅠ型（No. 92a, No. 110株）、Ⅱ型（No. 107, No. 96株）、Ⅲ型（No. 106, No. E株）、Ⅳ型（No. A, No. 91株）の8株を選び、Vitamin B₁₂ 加肝臓ブイヨン培地を用い、耐熱試験後 Heim 培地に移植し、37℃48時間培養後更にZ培地に移植し生死を確認した。50℃では60分でも死滅するものはなかったが、55℃20分で4株、30分で5株、60分で7株が死滅し、60℃5分で4株、10分で全株死滅した。なお菌型別にみるとⅡ、Ⅳ型に属する菌株がやゝ強い抵抗を示した。

（2）生存期間

本菌の保存を目的とした生存期間を調査した。培地は Heim の有・無糖の両培地を用い、使用菌株は前記の8株を試験に供した。永室、常温（20℃前後）、37℃の3条件下で、Heim 培地はゴム栓にて密栓し水分の蒸発を防ぐ様にした。諸家⁵⁾²⁰⁾の一致する所では Heim 培地常温で2～10週とされているが、本実験でも無糖 Heim 培地は永室内で最短が16日間、長いもので130日間、37℃では7日～14日間、常温では21～60日であり、有糖

培地では各条件下とも無糖培地に比較しほぼ半減している。Ⅰ型は他型に比較してやゝ短い様である。

2) 腔桿菌と他細菌との拮抗作用

使用菌株は先の8株を供し、有・無糖の Heim 培地を用い、腸球菌 (D 10100株), プドウ球菌 (209P), 大腸菌 (O—24株), ビフィズス菌 (B群) の4種について実験した。各試験管にはそれぞれ24時間培養の腔桿菌及び上記各菌浮游液を1白金耳ずつを移植し37°C孵卵器に入れ、12, 24, 48時間, 2, 3, 4, 5, 6, 7日後に各試験管のpHを検し、同時に腔桿菌はZ培地に、腸球菌はS.F. 培地に、大腸菌はE.C培地に、プドウ球菌は110番培地に、ビフィズス菌はMe培地に移植して生死を確認した。プドウ球菌、大腸菌では有糖培地では24~48時間後には両菌とも死滅したが、無糖培地では7日後も全株生存した。腸球菌も有糖培地で3~4日で全株死滅したが、無糖培地では逆に6~7日後に腔桿菌が全株死滅した。ビフィズス菌は有・無糖培地とも7日後も両菌が生存し全く拮抗関係は見られなかつた。なお有糖培地でのpH値の低下は著明であるが、無糖培地ではごく軽度であつた。

3) 他種乳酸桿菌との比較

(1) 直腸内嗜酸桿菌との比較

本菌と嗜酸桿菌の異同に関しては未だ異論のある問題であるが⁵⁾¹⁴⁾²¹⁾、今回私は主に血清学的立場より実験を試みた。

a. 嗜酸桿菌の分離及び同定

外来新患 108例について腔桿菌と全く同一方法で直腸内より分離を行い、検出率は59.2%(64例)で計66株を分離した。分離株について前記4型の血清を用い同定した所、60株(90.9%)を同定する事が出来たが、6株は同定不能であつた。同定菌株の型別検出率はⅠ型6株(10.0%), Ⅱ型25株(41.6%), Ⅲ型17株(28.3%), IV型12株(20.0%)となり、腔桿菌の型別検出率と類似傾向を見た。

b. 腔桿菌と直腸内嗜酸桿菌の関係

上述の通り両菌は殆んど同一と考えられるが、同一採取時期の両菌を型別により比較して見ると、前記64例中両菌を同時に検出し得たもの38例中両者が同型であつたものは22例(57.3%)である。

c. 消失後の再現腔桿菌と嗜酸桿菌

褥婦42例の検索では直腸、腔内より同時に検出された18例中13例(72.2%)に同一菌型がみられた。また薬剤投与中腔桿菌の消失或は菌型の変化が見られた20例につ

いて、投与中止後検出された両菌の菌型をみると20例中13例が同一型を示した。

(2) ビフィズス菌との比較

成人腔内及び直腸内より検出されるビフィズス菌について嗜酸桿菌同様本菌との比較検討を試みた。使用菌株は当教室湯原が保存するA,B,C,D群の4種を用いた。

a. 生物学的性状の差異

ビフィズス菌は腔桿菌同様 Heim 及び Zeissler 培地に良く発育するが、Z平板上の集落形態は4種とも同様で半透明、露滴状の小集落(1~1.5mm)を呈し、腔桿菌の如き鮮明さはない。

糖分解能より見ればビフィズス菌は全株エスクリンを分解し、腔桿菌はⅠ型のみ分解するが前述の様に集落形態がⅠ型と全然異なる。

菌の形態では本菌は連鎖を作り易いが、ビフィズス菌はこれを作らないことを確認した。

b. 血清学的同定による差異

表11 腔桿菌(血清)とビフィズス菌(抗原)との交叉的定量凝集反応

腔桿菌血清	10x	20x	40x	60x	160	320	640	1280
Ⅰ型血清	A群	—	—	—	—	—	—	—
B	+	+	—	—	—	—	—	—
C	+	+	—	—	—	—	—	—
D	+	+	—	—	—	—	—	—
Ⅱ型血清	A群	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—	—
D	+	+	—	—	—	—	—	—
Ⅲ型血清	A群	—	—	—	—	—	—	—
B	+	+	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—	—
D	—	—	—	—	—	—	—	—
Ⅳ型血清	A群	+	+	—	—	—	—	—
B	+	+	—	—	—	—	—	—
C	+	+	—	—	—	—	—	—
D	+	+	—	—	—	—	—	—

腔桿菌代表株の4血清と前記4種のビフィズス菌との間に交叉的に定量凝集反応を試みた所、表11に示す様に、Ⅰ型血清に対してはB,C群が20倍、D群が10倍、Ⅱ型血清ではD群のみ10倍、Ⅲ型血清ではB群のみ20倍、Ⅳ型血清に対しては4群とも10倍で弱陽性を示したに過ぎない。新生児腔内及び成人腔内由来のビフィズス菌をそれぞれ20株計40株について同様に定量凝集を試みたが、いずれも高い凝集価は見られず、Ⅰ型血清に対して12株が、Ⅱ型血清には4株、Ⅲ型血清には5株、Ⅳ型

血清に対しては3株がわずかに10~20倍の血清で弱陽性であつたに過ぎない。

4) 腔桿菌の薬剤耐性試験

代表の4株を用い Heim 培地でCPに対する耐性獲得を検索したが、10代継代ではいずれの株も耐性を獲得しない。

5) 螢光抗体法の試み

本菌に対し螢光抗体法を応用したが、個々の菌の螢光は弱く、また菌塊としての螢光発色も個々の菌より幾分強い程度で、期待した結果は得られなかつた。

考 按

腔桿菌が発表され既に半世紀余を経ているにも拘らず、本菌の研究が多少等閑視された感があるのは、腔自浄作用の指標としての必要性は認められながらも、病原菌としての意義が少ないためと、分離培養の困難性に起因すると考えられる。さらに本菌の性状も細部にわたっては不明の点が多く、細菌学上の位置づけすら不明確であり、各研究者により、培地、培養法を異にし、分類は専ら生物学的性状に頼つて来たため統一された結果を見えていない^{20) 35) 36) 37)}。

この様な現状を打破する目的から本菌の血清学的分類が試みられ、Jütten(1922)²²⁾, Lash & Kaplan (1926),³⁾ 岡崎~大谷 (1913),²³⁾ 勝野 (1926),²⁴⁾ 岡本 (1935),⁴⁾ 石井 (1915),⁵⁾ 秋徳 (1956),²⁾ 相川 (1961),¹⁹⁾ らの業績があるが、相川を除きいずれも凝集反応に見るべき収獲を得ておらず、僅かに沈降反応、補体結合反応によりやゝ勝れた結果が得られたに過ぎない。この様な現況下にある腔桿菌について確実な同定法を確立することは、本菌の臨床的動態を検索する上に最も重要な問題である。私は先人の行つた血清学的同定法をとりあげ、これに改良を加えてみることにした。

まず血清学的同定に使用する因子血清を作製するためには標準株の選定が必要である。この目的から従来最も同定上の目安とされた集落の性状について黄磷法を用いて培養し、検索を行い、その成績を石井その他の成績と比較した結果、集落の性状より標準株を決定し型別することは不安定であり、これを血清学的同定に使用する因子血清作製の抗原とすることには難点があると考えた。さらに糖分解能についても観察し、アラビノース、マンノース、デキストリン、マンニト、エスクリンの5種の糖分解能を示標として分類を行つたが、亜型が多く、また集落形態による分類法と対比検討したところ、一致を見ないものもあり標準株の選定に苦慮したが、反

覆糖分解能を検査し、成績の不変であつた株をⅠ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ型に分類し、不本意ながら因子血清作製の標準株(抗原)とすることとした。次いで問題となる因子血清抗体価の上昇を測る目的で Adjuvant imcomplet を使用して、抗体価を1280倍まで上昇させることに成功し、また共通抗原の除去には肺炎双球菌の抗体分畫法を応用した Lee & Wu¹⁷⁾, Heiderberger & Kabot¹⁸⁾ 等の抗体特異精製法により良好な結果を得た。

次いで血清稀釈液をpH 8.0の蒸留水を用いることにより自家凝集を除去出来た。この様にして作製された因子血清を用いて臨床材料より分離した63株について血清同定(定量凝集反応)を行なつた結果92.0%の同定率を示し、集落性状による分類と糖分解能を応用した分類において亜型と見做された株についても93.7%の同定成績を認め得たので、本法を利用して腔桿菌を分類し、抗生化学療法剤による影響、他種乳酸桿菌との異同、臨床面での移行、定着性を検索しようと試みた。分離された274株についての同定成績はⅠ型36株(13.1%)、Ⅱ型94株(34.3%)、Ⅲ型68株(24.0%)、Ⅳ型52株(19.9%)であり、なお4種の血清で同定されなかつた株は24株(8.8%)であり、果して亜型なのか、或は相川のいう第Ⅴ型なのかは今後の研究に俟つべきものと思われる。

型別検出率ではⅡ型が優位を占め、Ⅲ型、Ⅳ型の順でⅠ型は最も低いが、岡本、石井、相川らのそれとは代表株選定を異にするため比較すべくもない。ただ糖分解より推察すると石井の成績と類似がみられるが、私のⅠ型の検出率が低い様である。

腔桿菌と他細菌との共存率では腸球菌、ブドウ球菌で20%台を示し、大腸菌、トリコモナスで15.7%、ビフィズス菌、カンジダでは3~4%となり、後2者との共存率が低いが、これは棲息条件を同じくする細菌間における増殖の優劣に起因するとも考えられる^{27) 28) 31)}。

また検出率は腔清浄度が良い程、pHが低い程高く、⁴¹⁾ 疾患別検出率においても同様の傾向がうかがわれた。また腔内他細菌、pH値と検出菌型の間には特に有意は認められなかつた。

分娩後の腔桿菌の出現をみると、全症例の62.5%が産褥5日迄に現われ、また腸球菌の出現は76%が産褥3日迄に認められ、率の上では腸球菌が腔桿菌より早めに出現する傾向を認めた。これを各症例別に観察すると両者同時出現が全体の42.5%、腸球菌が先に出現したものは25.0%である。真柄¹⁹⁾によれば分娩後の腸球菌は腔桿菌出現迄の腔内pH低下の役を果し、腔桿菌と交代するも

のの様であると述べているが、本実験においても全体の25.0%においてその傾向が見られた。又分娩後15時間以内の腔壁を強く擦過して培養した2例から腔桿菌を検出し得た事を考えると、必ずしも分娩により消失するとは限らずそのまゝ存続するものもあると思われ。

抗生化学治療剤の腔内抗与ではC Pにおいて全例、Tcで1例、TrM. で1例、D Fでは2例の消失を見たがP M, KMでは1例も消失を見ない。これは試験管内実験²⁵⁾とほぼ一致する。TrM. 投与例において消失例のあることは試験管内実験の成績と相反するとも考えられるが、これは無処置腔の連日培養でも消失した例のみられる事より類推すると、薬剤の影響だけとは考えられない。以上の成績から腔桿菌に対し抗菌作用を示さぬ TrM., KM., PM, は腔錠として有意義と考えるが、C Pその他の本菌に対し抗菌作用を有する抗生物質を使用した例においても投薬中止後4日で殆んど全例に腔桿菌が出現している事から見て、敢えてこれら薬剤の使用をさける必要もないと考えられる。

腔桿菌の定着性に関して無処置妊婦腔について検索した結果、4回の追跡においては全体の16%に菌型の変化がみられただけで84%は不変であった²⁶⁾。また薬剤の腔内投与では76%の高率で菌型の変化を見せたが、投与中止後再出現した菌型との間には有意差は認められず、33.9%が変動を示したにすぎなかつた。

更に分娩前後の菌型比較に際しても28.5%に変動が見られた。なお今回の実験では2種以上の菌型を同時に検出する事はできなかった。

直腸内嗜酸桿菌と腔桿菌との異同についても観察したが、前者の検出率は59.2%であり、腔桿菌血清による嗜酸桿菌の同定率が90.9%と高率であることより見て両者は、勝野、石井、相川らの説の如く殆んどが同一のものと考えられる。しかし同定不能であった6株については更に今後の検討を必要とする。なお同一例の腔桿菌と嗜酸桿菌が同型であった率は57.3%であり、消失後再出現腔桿菌と嗜酸桿菌との型別の一致したものは72.2%と高率に一致していることから見て直腸と腔との間には相互移行の存在を推察させ得る⁴⁰⁾。従つて以上の結果より、従来腔桿菌或は Döderlein 氏腔桿菌と呼ばれて来た本菌は、腔内乳酸桿菌と呼ぶのが妥当と考える。

ピフィズス菌は腔内及び直腸内より検出される乳酸桿菌であり、しかも嗜酸桿菌と腔桿菌がほぼ同一視されるならば腔桿菌とピフィズス菌との異同についても観察する必要があると考え、両者の生物学的性状を検索した結

果は、本菌のI型とピフィズスの全型がエスクリンを分解する点で共通点を有しているが、他の性状は全く異なっており、又腔桿菌I型血清に対してピフィズス菌のB,C,D 群が10~20倍で弱陽性を示した事は、両者間に何か共通因子の存在を疑わしめるとしても、両菌は全く異種の乳酸桿菌であるといえる。

結 語

1. 腔内乳酸菌の血清学的同定法について再検討を加え新たに臨床上応用を試み好成績を得た。即ち腔桿菌の血清学的型別において92.0%の同定率を得た。

2. 本菌の無差別検出率は61.6%であり、腔炎及び腔内容性状を悪くする疾患では検出率は低い。なお型別検出率ではII型(34.3%), III型(24.0%), IV型(18.9%), I型(13.1%)の順に高く、腔桿菌陽性例に対する他細菌の共存率は腸球菌、ブドウ球菌で20%台、以下大腸菌の順である。

3. 本菌の検出率は腔清浄度が良好なもの、pHの低いもの程高く、妊婦においても高率である。又年齢別では40才迄は無差別検出率とほぼ同程度であるが、高年になると急速に低下する。

4. 分娩後の腔桿菌と腸球菌の出現は同時出現が42.5%、腸球菌が先に出現したもの25%であるが、両菌共分娩後2~3日目に最高の出現率を示した、が5日迄に70%が出現している。

5. 腔内における腔桿菌は、何らかの因子が加わらない限りほぼ定着性を有している。

6. 腔桿菌は抗生物質に対する感受性を殆んど示さない。またKM., TrM. を用いての臨床成績においても同様の傾向が認められた。

7. 消失後再出現せる腔桿菌と直腸内嗜酸桿菌とが同型であった率が72.2%と高率に一致していることは両者間の相互移行を推察させ得る、また腔桿菌と嗜酸桿菌は血清学的同定で殆んど一致するし、型別検出率も類似している。

8. 本菌は有糖 Heim 培地中で、大腸菌、ブドウ球菌、腸球菌に対して拮抗作用を有するが、ピフィズス菌、カンジダとは拮抗しない。

9. 本菌とピフィズス菌は Heim, Zeissler 培地によく発育する以外、生物学的性状及び血清学的同定法においても一致を認めない。

10. 本菌と直腸内嗜酸桿菌とは同一と考えられるので、腔桿菌の呼称は不適當で腔内乳酸桿菌と呼ぶのが妥当と考える。

稿を終るにあたり御懇篤な御指導、御校閲を賜つた

恩師水野教授に深謝の意を表すると共に、当教室高田講師、松田講師、長峰講師の熱心な御指導、御援助を感謝致します。

文 献

- 1) Thomas, S.: J. Inf. Dis., 34, 218, 1928. —2) 秋穂裕美：医学研究, 26 (10), 162, 1956. —3) Lash A.F. & Kaplan, B.: J. Inf. Dis., 38, 333, 1926. —4) 岡本俊二郎：十全会雑誌, 40, 822, 1935. —5) 石井次男：日産婦誌, 4 (11), 935, 1952. —6) 相川清：東京獣医畜産学雑誌, 11, 16, 1961. —7) 成沢亀一郎：日産婦誌, 7 (2 臨増), 191, 1955. —8) 水野重光：産婦人科全書 (帯下), 1962. —9) 水野重光：産婦治療, 6 (4), 431, 1963. —10) 水野重光：産婦治療, 2 (2), 123, 1961. —11) Heim, L.: Med. Kli., 20, 179, 1918. —12) 天谷賢作：千葉医学会雑誌, 12, 194, 1934. —13) 本間道也：臨床検査, 7 (5), 323, 1963. —14) 勝野邦男：慶応医学, 7, 1999, 1927. —15) 右田俊介：臨床病理, 11 (8), 424, 1963. —16) 相川清：東京獣医畜産学雑誌, 10, 8, 1961. —17) Lee, K.H. & Wu: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 43, 65, 1940. —18) Heideberger, K. & Kabot: J. Exp. Med., 7, 186, 1937. —19) 真柄正直・小豆畑久治：日産婦誌, 31, 2016, 1936. —20) Tittsler, R.P. et al.: J. Bact., 54, 12

1947. —21) 越智勇一・光岡知足：日本獣医学誌, 20 (6), 71, 1958. —22) Jötten, K.W.: Arch. Hyg., 91, 143, 1922. —23) 岡崎正太郎・大谷彬亮：細菌学会雑誌, 21, 315, 1914. —24) 勝野邦男：日産婦誌, 21 (1), 1, 1926. —25) 山崎秀治：臨産婦, 15 (10), 857, 1961. —26) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th Ed., 1957. —27) Lash, J.J.: A.M.J. Obst. & Gynec., 67, 138, 1954. —28) 広沢昇：衛生伝染病学会雑誌, 12, 914, 1934. —29) Vasterling, H.W.: Arch. Gynäk., 195, 44, 1961. —30) 久松四郎：産婦の進歩, 7 (4), 172, 1955. —31) Berger, M. & Karovie, K.: Arch. Gynäk., 195, 46, 1961. —32) Naujoks, H.: Zbl. Bact., 1 (1), 582, 1921. —33) Rother, W.: Zbl. Gynäk., 25, 1357, 1925. —34) Lash, J.J.: A.M. J. Obst. & Gynec., 67, 138, 1954. —35) Rogosa, M. et al.: J. Bact., 65, 681, 1953. —36) Briggs M.: J. Gen. Microbiol., 9, 234, 1953. —37) Davis, G.H.G.: J. Gen. Microbiol., 13, 481, 1955. —38) Butler, B.C. et al.: A.M.J. Obst & Gynec., 79 (3), 432, 1960. —39) 永井清三：日新医学, 43 (6), 388, 1956. —40) 小島三郎・真柄正直他：日産婦誌, 27 (9), 1826, 1932. —41) 森山豊：日産婦誌, 27 (9), 1826, 1932.

(No. 1887 昭40・6・7 受付)