

院内感染症に対する乳酸菌の効果について

—感染動物を用いた加熱殺菌菌体 *E. faecalis* 投与効果に関する検討—

はじめに

我が国における薬剤耐性菌の存在は今や社会問題化している。かつて、その使用が先進国にほとんど限られていた抗菌薬が、医療需要が増加しつつある発展途上国で使用量を伸ばしており、医療システムが未整備で、不適切な使用や院内感染対策の不備が影響して新たな耐性菌が拡散している。人の移動が国際的になっている昨今、顕在化しないものも含め、耐性菌が先進国である日本にも広がっている¹⁾。

日本政府は2016年に“薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン(2016-2020)”を発表し²⁾、薬剤耐性に関する普及及び啓発、感染予防管理の実践、抗菌薬の適正使用に関する情報提供、国際協力の推進に積極的に取り組んでいる。さらに抗菌薬の適正使用を推進する目的で2018年の診療報酬改定において「抗菌薬適正使用支援加算」が新設されたことは記憶に新しい。

一方、ある種の乳酸菌の加熱殺菌菌体を用いた薬剤耐性菌への効果が検討され、多くの報告がなされ、抗菌薬に頼らない感染症対策につながるのではないかと期待が持たれている。今回、そのような観点から行われた感染動物を用いた乳酸菌加熱殺菌菌体 *E. faecalis* の論文が発表されたのでレビューしたい。



東邦大学医療センター
大森病院
栄養治療センター 部長
栄養部 部長
東邦大学医学部
臨床支援室 教授
鷺澤尚宏 先生

原著

感染動物に対する加熱殺菌した乳酸菌 *Enterococcus faecalis* の投与効果に関する検討

ニュートリー株式会社 中尾光治、原 浩祐、松尾知恵、川口 晋
新薬と臨床 Vol.69, No.3, 276-287, 2020

本論文は

■ 多剤耐性緑膿菌 (Multiple-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, 以下、MDRP)

■ 肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, 以下、*S. pneumoniae*)

■ クロストリディオイデス・ディフィシル (*Clostridioides difficile*, 以下、*C. difficile*)

の感染動物を用いて乳酸菌の投与効果を検討した報告である。

論文概要

加熱殺菌した乳酸菌 (Heat-killed lactic acid bacteria *Enterococcus faecalis*, 以下、*HkEf*) の経口からの事前あるいは事後投与による感染防御効果を感じ感染モデル動物試験により検証した。

① 多剤耐性緑膿菌 (MDRP) マウス感染試験 (試験方法の概要：表1、図1参照)

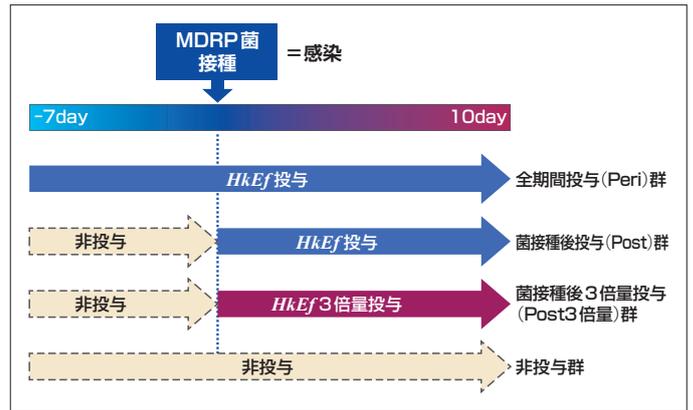
試験終了時の生存率は、非投与群10%に対して、MDRP菌接種の前後(全期間)に *HkEf* 投与群 (Peri群) で50%、菌接種後に *HkEf* 投与群 (Post群) で30%、菌接種後にPost群の3倍量の *HkEf* 投与群 (Post3倍量群) で40%となり各群とも有意に高い生存率であった (図2)。

▼表1 <<多剤耐性緑膿菌 (MDRP) マウス感染試験>>試験方法概要

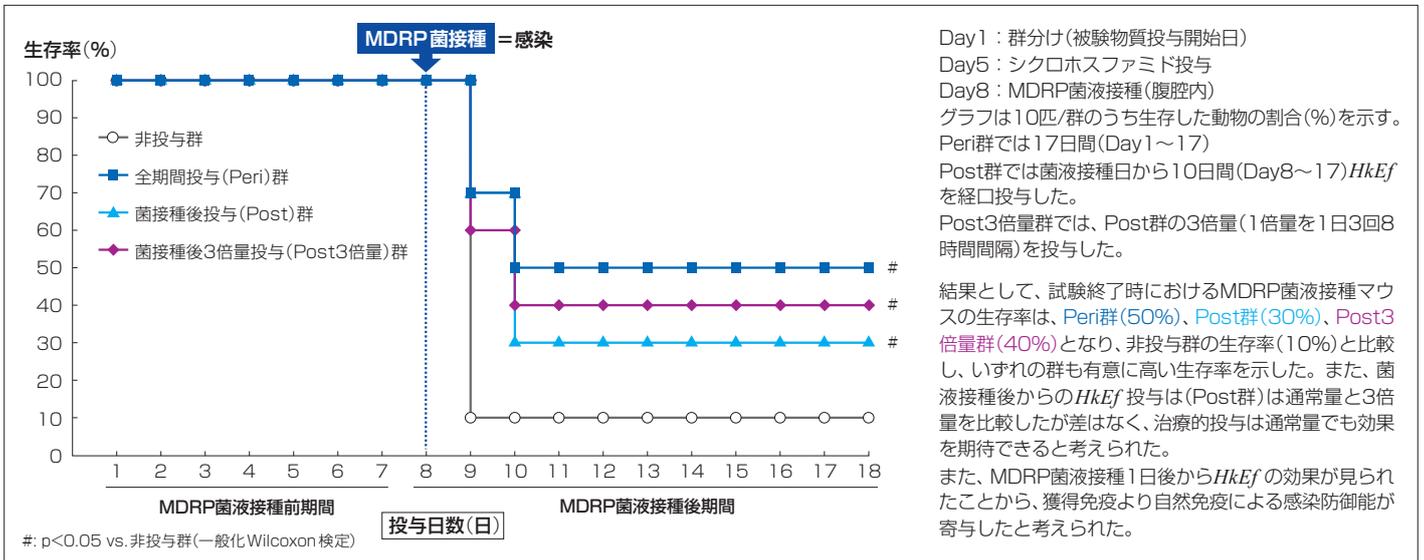
- ◆使用動物：4週齢のBALB/c系 (BALB/c Cr Slc) 雌マウス
※MDRPは免疫低下時に発症するため、免疫低下モデルの作製においては、免疫抑制剤であるシクロホスファミド(CPA)を腹腔内に投与
- ◆MDRPの接種：腹腔内投与
- ◆被験物質の投与：経口投与 (Hkefを120億個/kg/日：Peri群、Post群、Post3倍量群では360億個/kg/日)

群	Hkefの投与期間	Hkefの投与量
非投与群	注射用蒸留水	—
全期間投与 (Peri) 群	全期間	120億個/kg/日： ヒト換算量 (体重50kg)： 6,000億個/日
菌接種後投与 (Post) 群	MDRP接種後のみ	6,000億個/日
菌接種後3倍量投与 (Post3倍量) 群	MDRP接種後のみ	360億個/kg/日： ヒト換算量 (体重50kg)： 1兆8,000億個/日

▼図1 <<多剤耐性緑膿菌 (MDRP) マウス感染試験>>試験スケジュール概要



▼図2 多剤耐性緑膿菌 (MDRP) 接種マウスの生存率推移



② 肺炎球菌 (S. pneumoniae) マウス感染試験 (試験方法の概要：表2、図3参照)

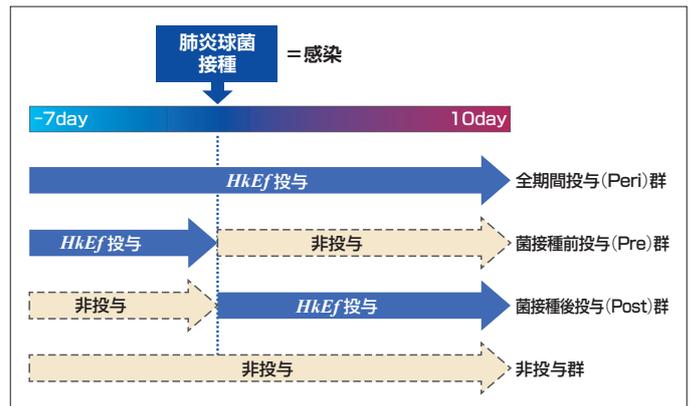
試験終了時の生存率は、非投与群0%に対して、菌接種の前後 (全期間) に Hkef 投与群 (Peri群) で60%と有意に生存率が高い結果となった。菌接種前に Hkef 投与群 (Pre群) では20%、菌接種後に Hkef 投与群 (Post群) で10%であり、2つの群では非投与群との間に有意差は認められなかった (図4)。

▼表2 <<肺炎球菌 (S. pneumoniae) マウス感染試験>>試験方法概要

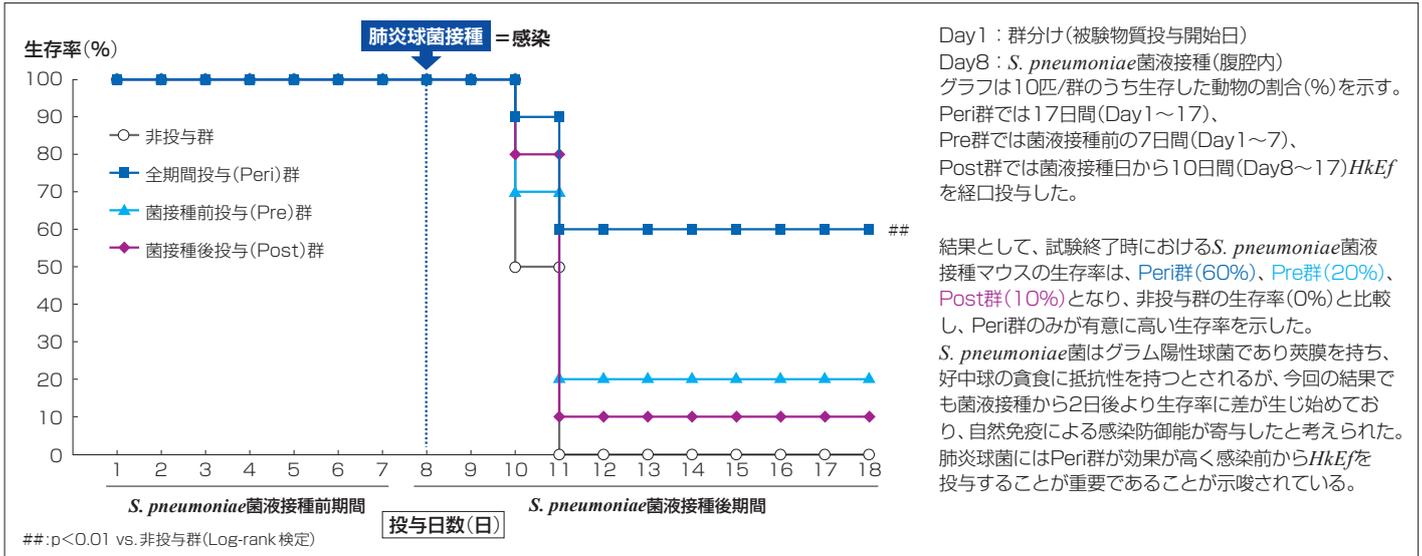
- ◆使用動物：4週齢のBALB/c系 (BALB/c Cr Slc) 雌マウス
※肺炎球菌 (S. pneumoniae) は莢膜を持ち宿主免疫細胞の貪食に抵抗性があり、病原性を強く発揮するため、MDRPモデルマウスで使用した免疫抑制剤であるシクロホスファミド (CPA) は使用しなかった。
- ◆肺炎球菌 (S. pneumoniae) の接種：腹腔内投与
- ◆被験物質の投与：経口投与 (Hkefを120億個/kg/日)

群	Hkefの投与期間	Hkefの投与量
非投与群	注射用蒸留水	—
全期間投与 (Peri) 群	全期間	120億個/kg/日： ヒト換算量 (体重50kg)： 6,000億個/日
菌接種前投与 (Pre) 群	肺炎球菌接種前のみ	6,000億個/日
菌接種後投与 (Post) 群	肺炎球菌接種後のみ	6,000億個/日

▼図3 <<肺炎球菌 (S. pneumoniae) マウス感染試験>>試験スケジュール概要



▼図4 肺炎球菌(*S. pneumoniae*)接種マウスの生存率推移



③ *C. difficile*ハムスター感染試験(試験方法の概要：表3、図5参照)

試験終了時の生存率は、非投与群20%に対して、菌接種の前後(全期間)に*HkEf*投与群(Peri群)で90%、菌接種後*HkEf*投与群(Post群)で80%であり、両群とも有意に生存率が高い結果となった(図6)。

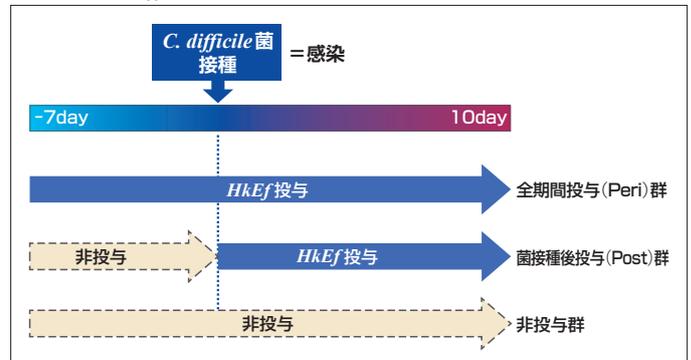
さらに*C. difficile*では糞便中の菌数が*HkEf*投与群において有意に少ない結果となり、芽胞菌である*C. difficile*に対する直接的な作用も示唆した結果となった(図7)。

▼表3 <<*C. difficile*ハムスター感染試験>>試験方法概要

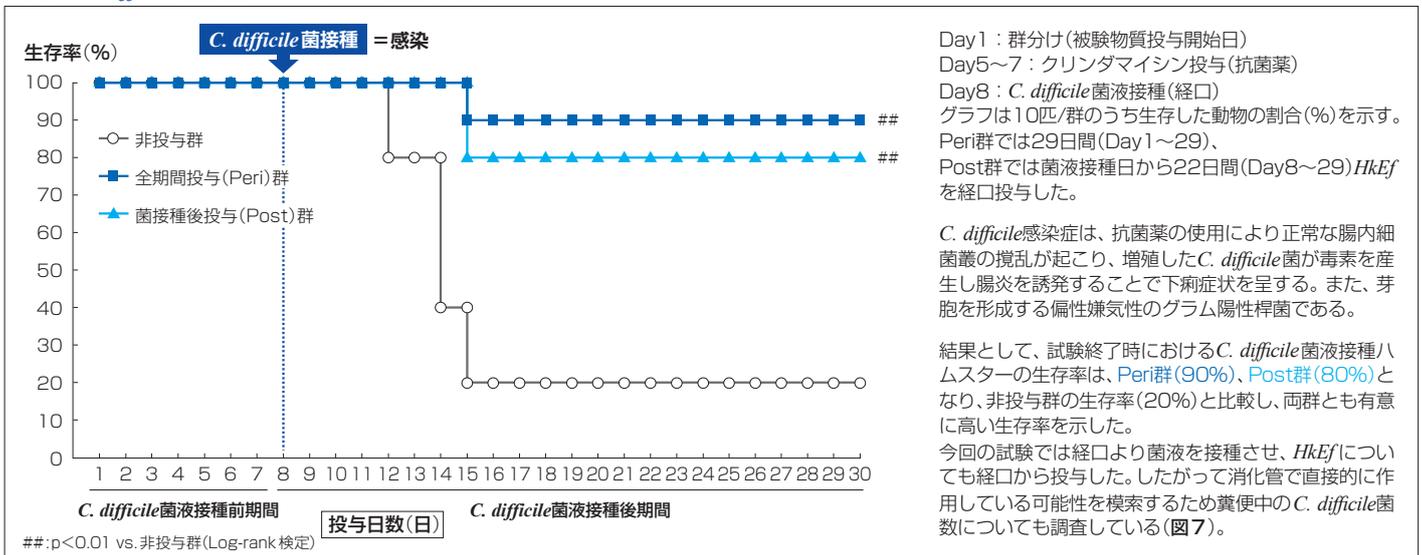
- ◆使用動物：3週齢のSyrian系(Slc：Syrian)雄ハムスター
※*C. difficile*はマウスの感受性が低く、感染モデルを作製することが困難であり、感受性の高いハムスターにて試験を実施した。
- ◆*C. difficile*の接種：経口投与
- ◆被験物質の投与：経口投与(*HkEf*を120億個/kg/日)

群	<i>HkEf</i> の投与期間	<i>HkEf</i> の投与量
非投与群	注射用蒸留水	—
全期間投与(Peri)群	全期間	120億個/kg/日： ヒト換算量(体重50kg)： 6,000億個/日
菌接種後投与(Post)群	<i>C. difficile</i> 接種後のみ	6,000億個/日

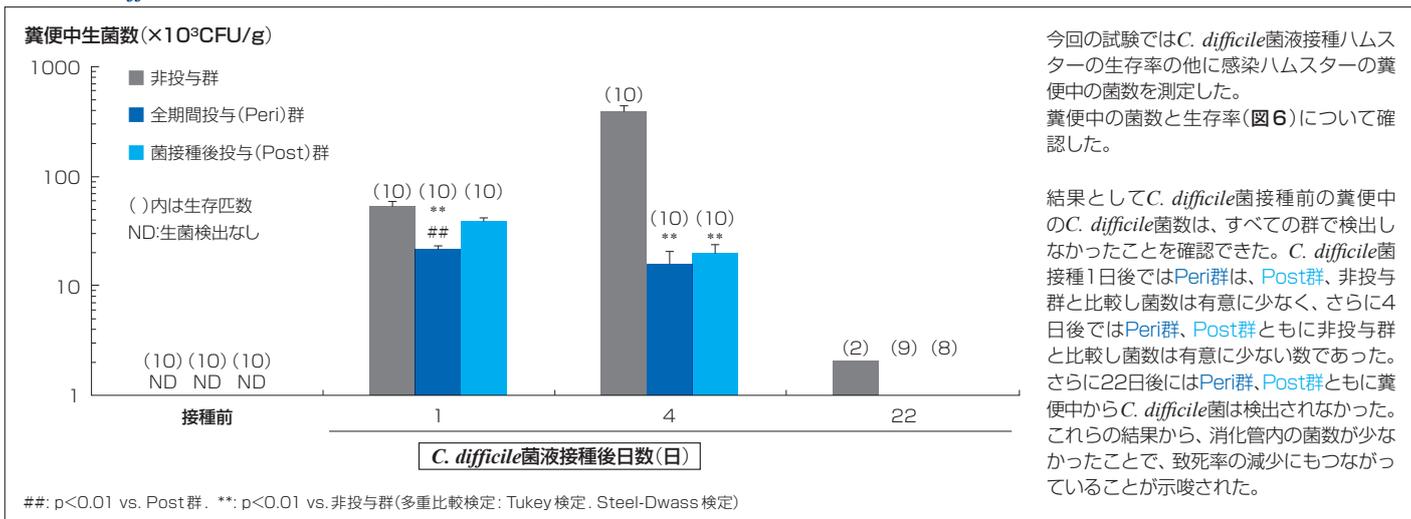
▼図5 <<*C. difficile*ハムスター感染試験>>試験スケジュール概要



▼図6 *C. difficile*菌接種ハムスターの生存率推移



▼図7 C. difficile菌接種ハムスターの糞便中生菌数の推移



今回の試験ではC. difficile菌接種ハムスターの生存率の他に感染ハムスターの糞便中の菌数を測定した。糞便中の菌数と生存率(図6)について確認した。

結果としてC. difficile菌接種前の糞便中のC. difficile菌数は、すべての群で検出しなかったことを確認できた。C. difficile菌接種1日後ではPeri群は、Post群、非投与群と比較し菌数は有意に少なく、さらに4日後ではPeri群、Post群ともに非投与群と比較し菌数は有意に少ない数であった。さらに22日後にはPeri群、Post群ともに糞便中からC. difficile菌は検出されなかった。これらの結果から、消化管内の菌数が少なかったことで、致死率の減少にもつながっていることが示唆された。

論文レビュー

著者らは先行する研究で既にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)感染マウスに対する加熱殺菌した乳酸菌 *Enterococcus faecalis* の投与効果に関する検討を報告しており、今回の研究結果と同様に生存率を改善させたと報告している³⁾。

本研究では多剤耐性緑膿菌(MDRP)、肺炎球菌(*S. pneumoniae*)、抗菌薬の使用による腸内細菌叢の崩壊により消化器症状を起こすC. difficileに感染させた動物の生存率を評価している。また、C. difficileの糞便中の菌数を評価している。

これらの細菌は、乳酸菌死菌(HkEf)が小腸の腸管粘膜より取り込まれ、Toll様受容体に結合することで自然免疫を誘導するものと考えられる。ただし、C. difficileはトキシンを産生することで消化器症状を呈することが知られており、その治療には消化管

内の菌数を低下させ腸内細菌叢を正常に戻すことが必要であると考えられる。今回の報告では糞便中の菌数を有意に抑えていることが期待され、HkEfの消化管への投与によりC. difficileに直接的に作用している可能性が示唆された。

以上の結果より、MDRP、肺炎球菌などの細菌には自然免疫を賦活化させることで効果を示し、さらにC. difficileには上記の作用に加えて直接的な作用の可能性が示唆されたことにより、抗菌薬関連下痢症や偽膜性大腸炎などの下痢の予防もしくは治療にも効果が期待できるものと考察されている。

しかし、臨床評価は、細菌感染症を対象とした治療に抗菌薬を使用せず検証することが倫理的に難しく課題である。

総評

緑膿菌は本来毒性が低いものの、段階的に形成された多剤耐性緑膿菌(MDRP)は病院で多用されているカテーテルや気管内チューブなどの生体内人工物で繁殖し、抗菌薬で対応することが困難な菌である⁴⁾。肺炎球菌(*S. pneumoniae*)による重度肺炎例や菌血症に対しては、抗菌薬以外の治療法は確立されていないため、肺炎球菌ワクチンなどの予防が重要だといわれている⁵⁾。また、Difficile腸炎は市中感染型も報告され、北米では第三の毒素を産生するNAP1株の蔓延が問題となっており、

その治療には便移植を含む多面的な戦略が求められている⁶⁾。今回の論文では、加熱により死滅させた乳酸菌を病原菌の摂取前、後、前後に投与することで、生存率を向上させる結果が得られた。また、本実験のように糞便中のC. difficileが減少するメカニズムが解明されれば、投与方法がより具体的になり、適応症例が明確になることで、薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン²⁾の対象である難治性感染症の予防及び治療の両側面から医療に貢献することが期待される。

【引用文献】

- 1) 大曲貴夫, 日本の薬剤耐性(AMR)対策アクションプランの目標と戦略. 日本化学療法学会雑誌 Vol.66, No.5, 2018
- 2) 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議: 薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン(2016-2020). 2016
<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000120769.pdf>
- 3) 原浩祐ほか, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)感染マウスに対する加熱殺菌した乳酸菌 *Enterococcus faecalis* の投与効果に関する検討. 新薬と臨床 Vol.67, No.1, 2018
- 4) 多剤耐性グラム陰性菌感染制御のためのポジションペーパー 第2版; 日本環境感染学会, 環境感染誌 Vol.32, Suppl. III, 2017
- 5) 永井英明, 肺炎球菌ワクチンをめぐる最近の動向と課題. 日本化学療法学会雑誌 Vol.65, No.6, Nov. 2017
- 6) 山田知輝, 便移植. 日本静脈経腸栄養学会雑誌 Vol.31, No.3; 811-816: 2016

