

尿路感染症におけるL型菌の研究

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 高井修道教授)

松 岡 俊 介

STUDIES ON BACTERIAL L-FORMS
IN THE URINARY TRACT INFECTION

Shunsuke MATSUOKA

*From the Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine**(Director: Prof. S. Takai)*

Bacterial L-forms, a cell wall deficient mutant form, are known as inflammatory latent factors which are formed by bacterial cell wall blocking agents (cf. some kinds of antibiotics, lysozyme, serum and so on), but when they revert to parent strain, they acquire parental, high virulence again.

The author examined bacterial L-forms in the urinary tract diseases, of which diseases of the upper urinary tract were 94 and those of the lower urinary tract were 84 cases. All the cases were medicated by synthetic penicillins or cephalosporins before examinations.

Positive data of bacterial L-forms were shown in 22 cases (23.4%) of the upper tract diseases and 2 cases (2.4%) of the lower tract diseases.

Symptoms of bacterial L-forms infections in the urinary tract were not obvious, but clinical data showed some signs of inflammation.

Therapy of bacterial L-forms in the urinary tract infection is, at first, how to reduce urinary hyperosmolality. The method of reducing hyperosmolality is operation and water diuresis. Operations were done on 24 cases and thus 20 of the 24 cases improved. Water diuresis was attempted on 10 cases with ureteral calculus using intravenous administration of 5% glucose solution, 1,000 ml daily for 7 days and thus 8 of the 10 cases improved. Administration of antibiotics was done only for 4 non-improved cases with operation and 2 non-improved cases with water diuresis. Macrolide antibiotics, sensitive to bacterial L-forms, were administered to these 6 cases with usual dosis during 5 to 7 days and finally all cases improved. In two of the 6 cases, recurrence of the urinary infection occurred after withdrawal of macrolide antibiotics administration. In these two cases urine osmolality remained high even after the operation.

Sometimes bacterial L-forms are thought to be iatrogenic because of many bacterial cell wall blocking drugs such as synthetic penicillins or cephalosporins which were used mainly as antibiotics against urinary infections in the recent years.

Therefore, variant types, for example bacterial L-forms, being apt to survive under hyperosmotic conditions in renal parenchyma, are necessary to be examined clinically and fundamentally in chronic or recurrent urinary infections.

緒 言

感染症は、一般に宿主と寄生体との関係において成立するといわれている。したがって、感染症を検討し分析、解明していくうえで宿主側の感染に対する反応と寄生体の感染を生ずる条件とを別々に究明し、そしてこれらを総合することにより感染症の全貌を把握することができる。

尿路感染症においても他領域と同様まず起炎菌を決定することが必要であり、これに基づいて薬剤感受性を検討し薬物療法をおこなうことになる。

最近化学療法のめざましい開発、進歩により尿路感染症のみならず他科領域においても著しく感染症の治癒率が上昇してきたことは衆目の一致するところであるが、他方好気性培養では得られない嫌気性菌の存在や、抗生剤の乱用にも一因していると思われる耐性菌の出現、さらには細菌の変異株の出現などが感染症の治癒遅延、再発、再燃などの因ともなっているため、昨今の感染症の複雑さ、難治性を物語っているのではないかと考えられる。

今回著者は、これら尿路感染症の遅延、再発、再燃などが出現する場合にみられる細菌の変異株の果たす役割について観察してみたいと考え、変異形式の1種であるL型菌を例挙し臨床的に、また、実験的に検討したところ若干の知見を得たので報告する。

臨床的観察

この項目では、尿路L型菌感染症の臨床像を把握するために、L型菌検出方法よりはじめて対象症例について後記せる検査項目別に検討した。

検出方法

1) 検体採取

a) 尿の場合、原則として男子は自然排尿の中間尿を、女子の場合はカテーテル導尿によりおのおの採取する。このほか、上部尿路手術のさい採取せる腎盂尿も使用した。以上の検体を5%食塩液 5ml を入れてある滅菌試験管に尿 5ml を加えて混和し 4~6°C freezer に 5~6 時間保存する。

b) 腎摘除または腎部分切除をおこなった組織はなるべく無菌的にホモジネートし、5%食塩液 5ml を加えてある滅菌試験管に混和させ尿の場合と同様保存する。

c) 尿道または前立腺分泌物の場合は、尿道および前立腺をマッサージして得られた分泌物を白金耳に付着せしめ5%食塩液 5ml を入れてある滅菌試験管に混和させ尿の場合と同様保存する。

2) L型菌分離法

a) L型菌用培地作製

Brain-Heart-Infusion 培地(栄研化学)を基礎培地として、5%食塩、1%精製寒天(液体培地の場合は除く)を加えて滅菌し、さらに10%馬血清(滅菌)を加えてから pH 6.8 に調製のうえ作製する。

b) 検体処理法

4~6°C freezer に 5~6 時間保存しておいた検体を孔径 0.45 μ の millipore filter を用いて濾過し、濾液を上記L型菌用培地に 0.25 ml 滴下させ接種する。とくに尿検体の一部は一般細菌分離同定および薬剤感受性、ほかに pH 測定、浸透圧測定、尿中白血球などの検査にも用いられる。

対象症例

1970年1月より1975年12月までの期間、横浜市立大学医学部病院および横浜市民病院のおのおの泌尿器科で加療せる慢性尿路感染症を合併せる患者(1,056名)のうち、検査前に合成ペニシリンまたは合成セファロスポリン製剤を1週間前後常用量使用せる症例(178名)をおもに対象とした(なお、比較検討するうえで上記以外の薬剤を投与せる症例50例を at random に検査した)。

上部尿路疾患 (94例)

内訳	先天性水腎症	8例
	腎結石症	28例
	尿管結石症	58例

下部尿路疾患 (84例)

内訳	前立腺肥大症	45例
----	--------	-----

(うち10例は VUR 合併)

慢性前立腺炎 15例

慢性尿道炎 24例

検体数は、延べ数として尿 256 検体、腎組織ホモジネート 47 検体、前立腺分泌物 26 検体、尿道分泌物 36 検体などである。

L型菌検出判定法

下記のごとくL型菌用培地上にL型菌の集落を認めた場合陽性(例)とする。

すなわち、固定培地の場合は接種後約1週間観察していると、肉眼的には 0.5~1 mm 程度の油滴状の集落を認めるようになる。これを光学顕微鏡弱拡大で観察すると fried egg に似た集落を示している。さらに強拡大で観察すると中心部は暗い部分で顆粒状(L型菌の集落を)呈しており、周辺部は比較的明るい部分で球状をした 10 μ 前後の大型細胞 (large body) の集落とに区別される。その生成過程においてL型菌のみの集落や大型細胞のみの集落も認められる (Fig. 1, 2)。

液体培地の場合は、約1週間で試験管底部に白雲の

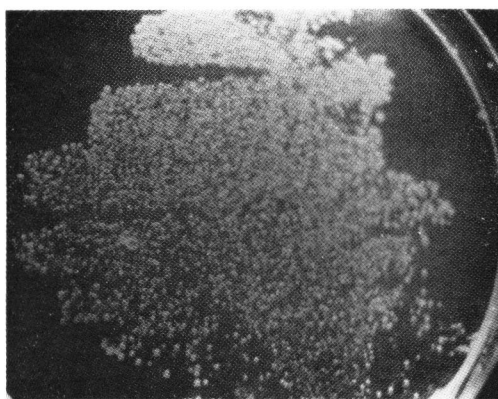


Fig. 1. Colonies of L-form bacteria: 0.5~1 mm sized, oil-drop-like colonies can be seen on solid medium for L-form bacteria about one week after inoculation.

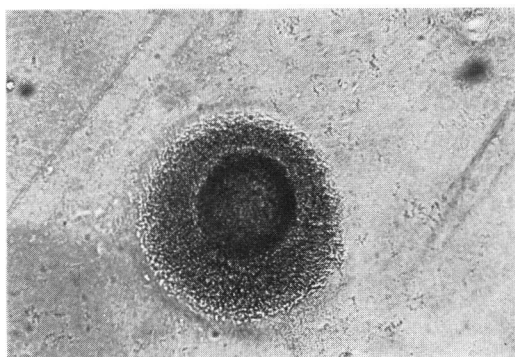


Fig. 2. Magnification of the colony: The colony appears to be just as a sunny side up egg. The central portion is granular and surrounded by a clear ring zone. ($\times 100$)

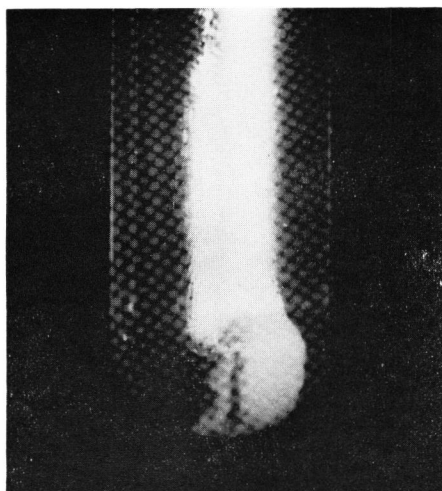


Fig. 3. Colonies of L-form bacteria: Cloud like precipitation is seen in the liquid medium about a week after the inoculation of L-form bacteria.

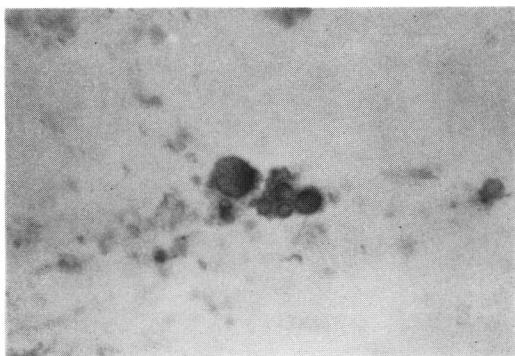


Fig. 4. L-form bacteria with erythrocyte like appearance is observed by Dienes' staining. ($\times 1,000$)

ごとき白い沈殿を認めるようになる (Fig. 3). この一部を採って Dienes 染色により検鏡すると赤血球に似た形態を示すL型菌を観察することができる (Fig. 4).

臨床検査項目

既述した症例について下記の項目別に検査してみた。

- 1) 熱 型
- 2) 末梢血白血球数
- 3) 赤血球沈降速度
- 4) C-reactive protein
- 5) 尿浸透圧
- 6) 尿 pH
- 7) 尿中白血球数
- 8) 尿中電解質

9) 尿一般細菌

10) 腎機能検査

血清尿素窒素およびクレアチニン

PSP テスト

フィッシュベルグ濃縮試験

11) 静脈性腎盂造影

12) 病理組織標本

成 績

L型菌検出例を各症例別に列記すると下記のごとくになる。

	術前検出例	術後検出例
上部尿路疾患	22例	4例
内訳 先天性水腎症	3例	1例

腎結石症 11例 2例
 尿管結石症 18例 1例
 (ただし、尿管結石症 18例のうち、10例に対して水
 利尿療法を試み加療後も 2 例に検出例を認める)

	術前検出例	術後検出例
下部尿路疾患	2 例	0
内訳 前立腺肥大症	2 例	0
非手術例		
慢性前立腺炎	0	
慢性尿道炎	0	

上記L型菌検出例の臨床検査成績を列举すると下記
 のごとくなる。

① 熱 型

腋窩温による測定では弛張熱の寛解期に相当してL
 型菌が好発している (Fig. 5).

② 末梢血白血球数

平均 $8,100/\text{mm}^3$ と軽度亢進を示す (Fig. 6).

③ 赤血球沈降速度

1 時間値を基準とした平均では 56 mm と亢進を示
 す (Fig. 7).

④ CRP

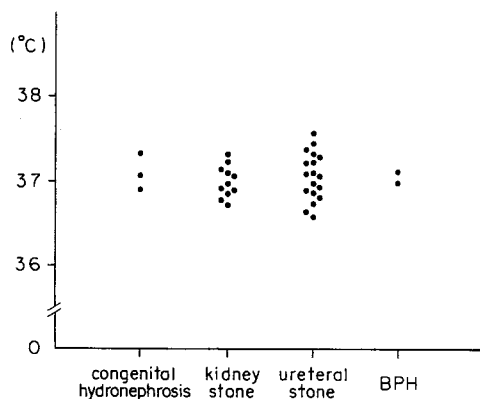


Fig. 5. Type of fever.

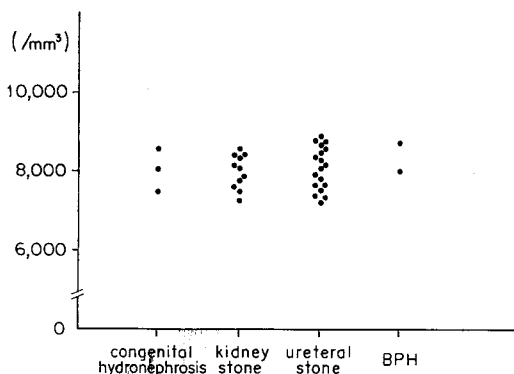


Fig. 6. White blood cell (peripheral blood).

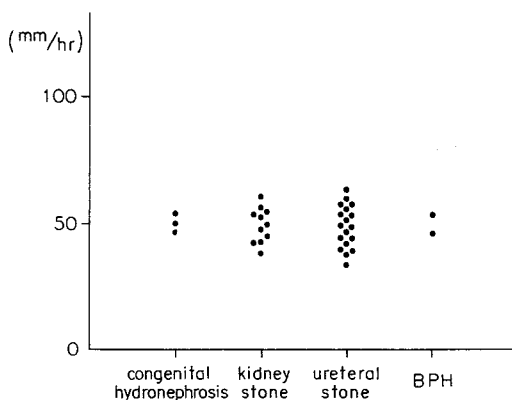


Fig. 7. Erythrocyte sedimentation rate.

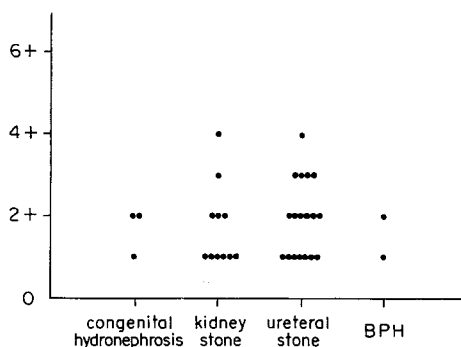


Fig. 8. CRP

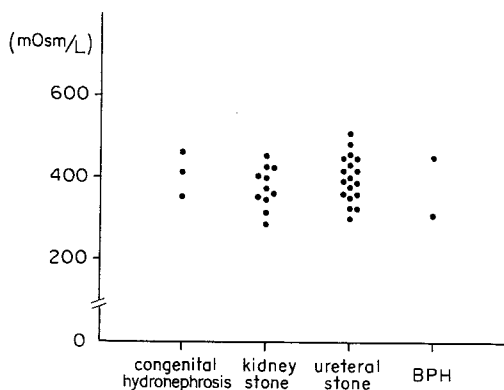


Fig. 9. Urinary osmolality.

平均 2+ と軽度亢進を示す (Fig. 8).

⑤ 尿浸透圧

Fisk の osmometer を使用し測定したところでは平
 均 475 mOsm/L と高浸透圧を示す (Fig. 9).

⑥ 尿 pH

pH meter を用いて測定したところでは平均 6.64 と
 弱酸性を示す (Fig. 10).

⑦ 尿中白血球数

遠沈 (1,500 回/分, 5 分間) により得られた沈渣標

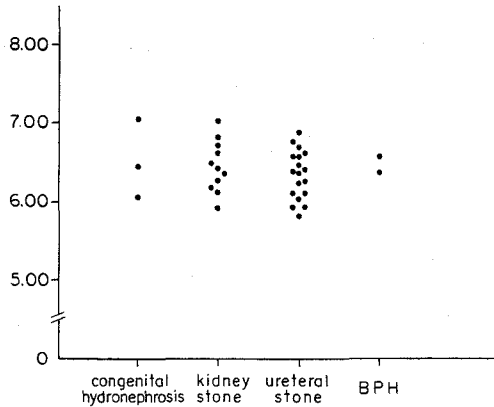


Fig. 10. Urinary pH.

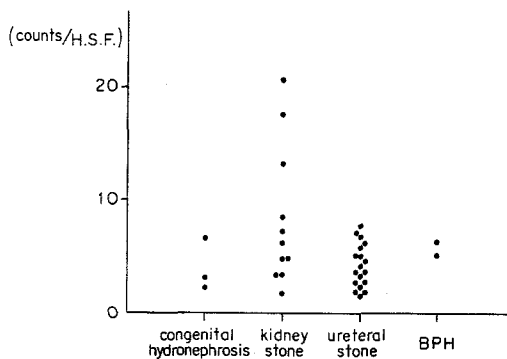


Fig. 11. White blood cell in the urine (pyuria).

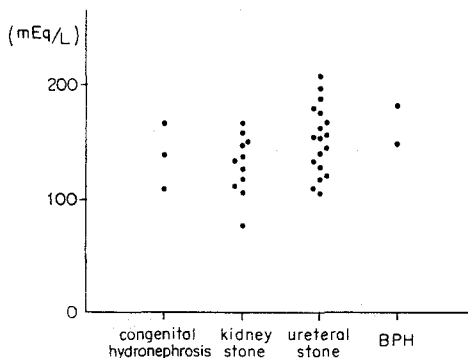


Fig. 12. Urinary sodium concentration.

に単染色を施し、強拡大1視野中の白血球数を算定し平均したところ 4~5 コ/HPF と中等度膿尿を示す (Fig. 11).

⑧ 尿中電解質

とくにナトリウムについて検査してみると、平均 173.5 mEq/L と high natrenuria を示す (Fig. 12).

⑨ 尿一般細菌

L型菌親株の分類は、*Proteus* 属 9 株、*E. coli* 6 株、*Klebsiella* 4 株、*Citrobacter* 3 株、*Staphyl. epidermidis*

Table 1. Classification of the parent strains of L-form bacteria.

Gram-negative rods (22 strains)	
<i>Proteus</i> group	9
<i>E. coli</i>	6
<i>Klebsiella</i>	4
<i>Citrobacter</i>	3
Gram-positive cocci (8 strains)	
<i>Staphyl. epidermidis</i>	5
<i>Staphyl. aureus</i>	3

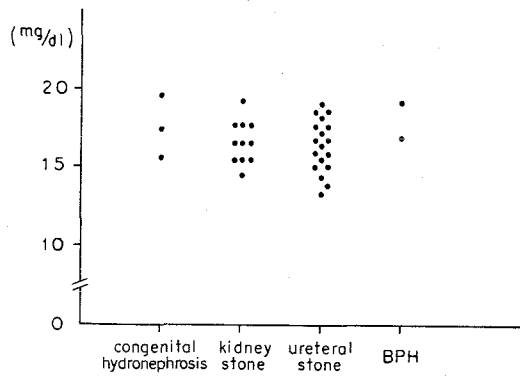


Fig. 13. Blood urea nitrogen.

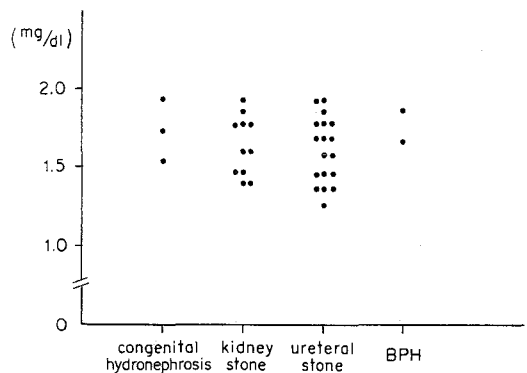


Fig. 14. Blood creatinine.

5 株、*Staphyl. aureus* 3 株等であった (Table 1).

⑩ 腎機能検査

(イ) 血清尿素窒素

平均 18.3 mg/dl と正常範囲を示す (Fig. 13).

(ロ) 血清クレアチニン

平均 1.51 mg/dl と正常範囲を示す (Fig. 14).

(ハ) PSP テスト

15分値を基準とした平均値は、21.5%と正常下限値を示す (Fig. 15).

(ニ) フィッシュベルグ濃縮テスト

3回施行のうち最高値を基準とした平均値は1,017

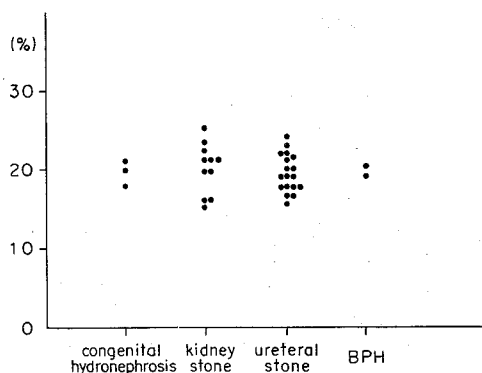


Fig. 15. PSP excretion test (15 minute after i.v. injection).

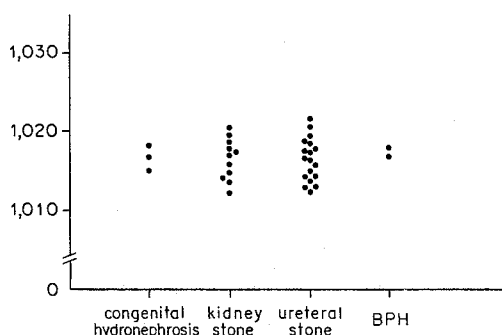


Fig. 16. Fishberg's concentration test (maximum).

と軽度低下を示す (Fig. 16).

① 静脈性腎盂造影

藤野-岡方式による水腎症の分類では G type 以上に好発している (Fig. 17).

② 病理組織所見

摘出せる腎標本または生検による標本の病理組織所見は、Bowmann 氏嚢、糸球体、近位尿管などには変化はみられず、腎盂粘膜下組織とくに乳頭部組織および遠位尿管傍間質にリンパ球の浸潤が著明である (Fig. 18, 19).

小 括

以上の結果を総合してみると、L 型菌による尿路感染症は上部尿路疾患を合併した症例に多く好発するものの、自覚的に発症は著明でない。他覚的所見では感染のレベルの程度の低さを示しており、腎機能の面では糸球体および近位尿管機能は正常なるも遠位尿管機能にわずかながら低下が認められる。病理組織所見によると腎乳頭部を中心とした腎盂粘膜下組織に遊走細胞の浸潤が認められる乳頭炎としての感染が発生していることがうかがえる。したがって、一般細菌による腎盂腎炎は腎盂粘膜下組織のみならず遠位、近位尿管さらには糸球体にまで程度により炎症反応が波

及することがあるのに比べ、L 型菌による感染像は乳頭部に局限しており感染のレベルの低さを物語っているといえる。

実験的観察

臨床的観察では、臨床検査項目の結果を羅列し、小括のところで述べたごとく、ある程度の尿路 L 型菌感染症の実態を浮彫りにすることができたと思われるので、この項目ではこれらを実験的に検討してみた。前述せるごとく L 型菌は、薬物の影響で細胞壁形成不全に陥り浸透圧の影響で生存が可能となる。したがって、これら 2 つの影響についての検討を試みた。

薬物による影響

細菌の細胞壁合成阻害剤として合成ペニシリン (AB-PC) を *in vitro* の実験に、合成セファロスポリン (CER) を *in vivo* の実験におのおの使用し検討した。

① *in vitro* における実験

L 型菌用培地作製時に AB-PC を 0, 2.5, 5, 10 mcg/ml の割合で固形培地に添加して薬剤含有培地とし、これらに L 型菌より復帰せる大腸菌 (AB-PC に対する MIC 5 mcg/ml) の一定量 (10^3 /ml) を接種し、37°C, 1 週間後判定したところ下記のごとき結果を得た。すなわち、2.5 mcg/ml 濃度における培地で L 型菌集落が最もよく発育しており、これは最小発育阻止濃度の 1/2 量に相当する。したがって、L 型菌は細胞壁合成阻害剤の最小発育阻止濃度内において好発しているといえる (Table 2)。

Table 2. Influences by antibiotics *in vitro*, AB-PC (MIC 5 mcg/ml).

Antibiotics	Colony	Colonial appearance
AB-PC (0)		L-form bacteria (—) Parent strain (+)
AB-PC (2.5 mcg/ml)		L-form bacteria (++) Parent strain (—)
AB-PC (5 mcg/ml)		L-form bacteria (+) Parent strain (—)
AB-PC (10 mcg/ml)		L-form bacteria (—) Parent strain (—)

② *in vivo* における実験

ddY 系マウス (17 ± 1 g) 40 匹を 2 群に分け、セファロジン (以下 CER) 投与群 (20 匹) と非投与群 (20 匹) とする。CER 投与群にはあらかじめ毎日 0.1 mg/g ずつ 1 週間腹腔内注射後 L 型菌より復帰せる大腸菌を用いてその一定量 (10^6 /ml) を尾静脈より注入



Fig. 17. Pyelogram of L-form bacterial infection shows hydronephrosis stage C after Fujino's classification.

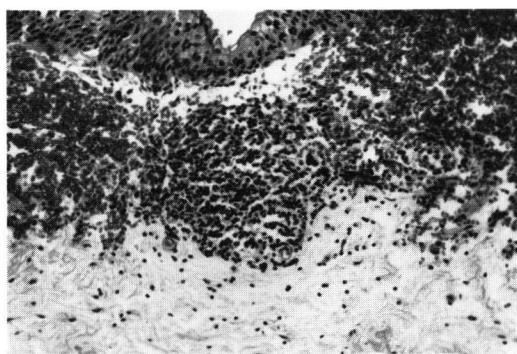


Fig. 18. Lymphocytic infiltration is seen in the submucosal tissue of the renal pelvis. (×100)

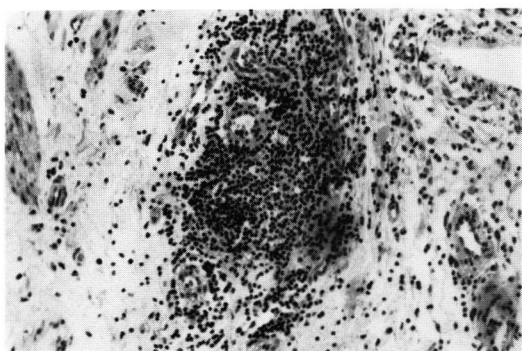


Fig. 19. Lymphocytic infiltration is seen in the renal stroma. (×100)

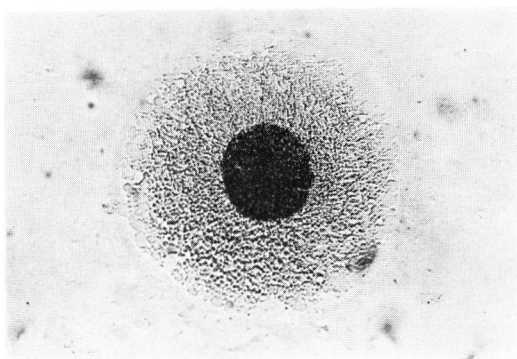


Fig. 20. Typical colonial appearance of L-form bacteria is still kept in the hyperosmolality (400 mOsm/L). (×100)

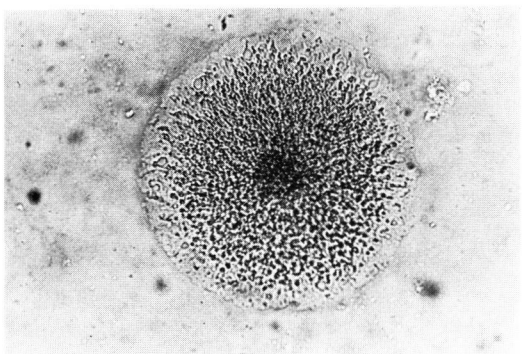


Fig. 21. Typical colonial appearance of L-form bacteria is gradually lost according to low osmolality (200 mOsm/L). (×100)

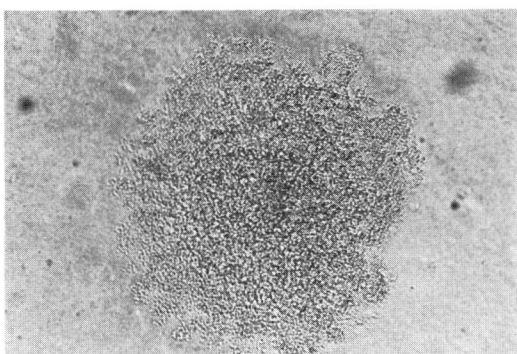


Fig. 22. Typical colonial appearance of L-form bacteria is further lost according to lower osmolality (100 mOsm/L). (×100)

Table 3. Influences by antibiotics *in vivo*, ddY mouse (17±1 gm) 40 cases.

Antibiotics	Case	L-form bacteria positive	L-form bacteria negative	Total
CER (+)		6	14	20
CER (-)		0	20	20

し、3日後屠殺し腎をホモジナイズした検体をL型菌固形培地に接種し 37°C 1 週後判定した。非投与群と比較したところ下記のごとき結果を得た。すなわち、CER 投与群20匹中L型菌は陽性例6匹であり、非投与群からは1匹も検出されなかった。これは CER の影響により腎実質内において親株の細胞壁合成が阻害されてL型菌が誘発されやすくなったものと考えられる (Table 3)。

浸透圧による影響

尿路感染症患者より得られたL型菌 (大腸菌由来) を用いて下記のごとき実験を試みた。L型菌用液体培地に 100, 200, 400 mOsm/L などの浸透圧になるように食塩濃度を調節し、これにL型菌の一定量 (10^3 /ml) を加えL型菌集落の形態および増殖曲線を追跡したところ下記のごとき結果を得た。

固形培地の場合

① 浸透圧 400 mOsm/L 以上の培地ではまだ定型的な fried egg appearance を呈しており、すなわちL型菌の形態は保持されている (Fig. 20)。

② 浸透圧 200 mOsm/L 以下の培地では浸透圧の低下に応じて漸次定型的な fried egg appearance は失われて非定型的、不規則、不定な集落となる。すなわち、低浸透圧によりL型菌としての生存が不能なることを示している (Fig. 21, 22)。

液体培地の場合

① 浸透圧 400 mOsm/L 以上の場合、接種後 48~72 時間で plateau (10^{6-7} /ml) に達し漸次ゆるやかに減衰する (Fig. 23)。

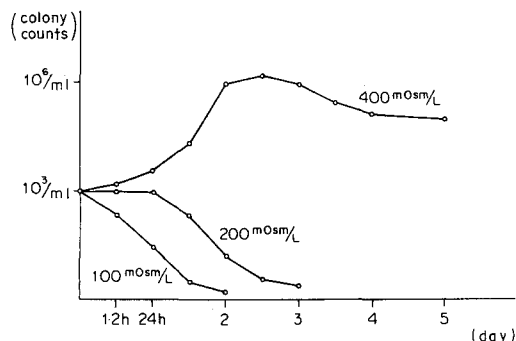


Fig. 23. Influence by osmolality.

② 浸透圧 200 mOsm/L 以下の場合、接種後 24 時間以内に plateau (10^{3-5} /ml) に達し、また、浸透圧の低下に応じて接種後直ちに減衰する (Fig. 23)。

小 括

以上の結果より、L型菌は細菌の細胞壁合成阻害剤の最小発育阻止濃度内において好発しやすく、そして高浸透圧下環境において生存が可能である。

治 療 法

L型感染症の特徴として、感染レベルは低く、しかし細胞壁合成阻害剤を使用した場合に好発し、浸透圧が高い状態において生存可能となるわけであるから、したがって治療法の眼目としては上述の条件を否定する方向にもっていくことになる。すなわち、浸透圧を低くし (手術療法、水利尿療法など)、また、L型菌感受性薬剤投与薬物療法等が必要となってくる。

手術療法

既述せるごとくL型菌陽性例のうち手術をおこなって陰性化を示したものは、腎盂形成術2例、腎切石術4例、腎盂切石術6例、尿管切石術8例、前立腺摘除

Table 4. Changes of osmolality by operation.

Operation	Cases	Pre-ope.	Post-ope.
Pyeloplasty	2	483.3	201.4
		512.6	213.8
Nephrolithotomy	4	430.6	198.1
		521.6	215.6
		418.9	263.8
		386.1	215.3
Pyelolithotomy	6	502.6	235.7
		412.7	193.8
		497.8	216.5
		457.6	283.7
		415.3	234.1
Ureterolithotomy	8	398.5	212.4
		502.6	283.3
		421.5	238.7
		501.3	302.5
		489.8	235.1
		433.6	217.3
		399.5	201.1
		475.6	213.7
Prostatectomy	2	426.5	300.5
		513.7	215.8

(mOsm/L)

術2例等計22例であった。これは手術により明らかに通過障害が除去されて術後尿流改善に伴い尿浸透圧の低下を招来させることによりL型菌が陰性化したものと考えられる (Table 4)。

水利尿療法

L型菌陽性例 患者のうち、尿管結石症患者で自然排出が期待できる10症例を選び、毎日5%ブドウ糖

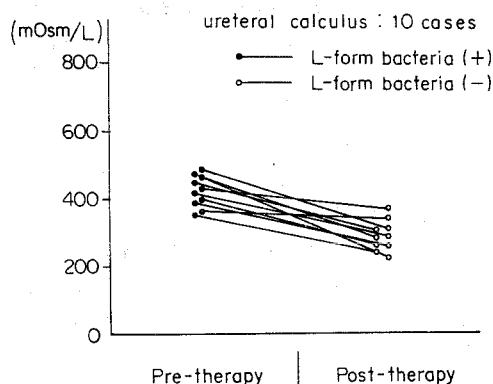


Fig. 24. Changes of osmolality by water diuresis.

1,000 ml および利尿剤 (frosemide 20 mg) を7～10日間静脈点滴により投与したところ尿量増大に伴い尿浸透圧も低下し8例に陰性化を認めた (すなわち、この8例は結果的に結石の自然排出があった) (Fig. 24)。

薬物療法

L型菌とこれより復帰せる親株 (一般細菌) との薬剤感受性の異同を3濃度ディスク法 (栄研) により検討したところ下記のごとき結果を得た (Fig. 25, 26)。

(A) アミノベンジルペニシリン、セファロリジン等はL型菌に対して耐性を示す。

(B) リンコマイシン、エリスロマイシン、クロラムフェニコールおよびストレプトマイシン等はL型菌に対して感受性を示す。

L型菌陽性例のうち、手術療法、水利尿療法などでは陰性化しなかった症例に対しマクロライド系薬剤を常用量 (1,000 mg/T) 1週間併用したところL型菌の陰性化を認めた。

小 括

L型菌尿路感染症の治療法は、まず手術療法により器質的病変が除去されることで、また、尿量を増大さ

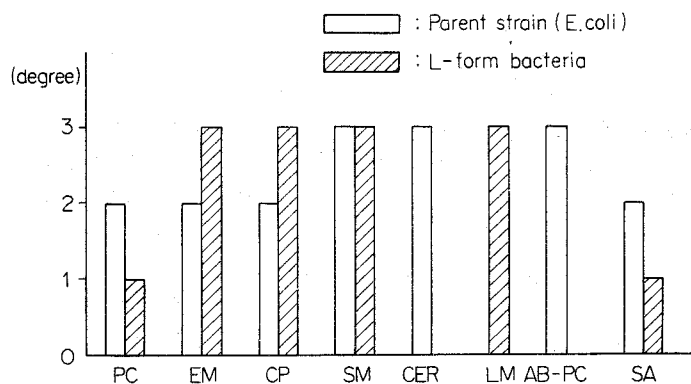


Fig. 25. Sensitivity test by tri-disc method (Eiken Chemi. co.).

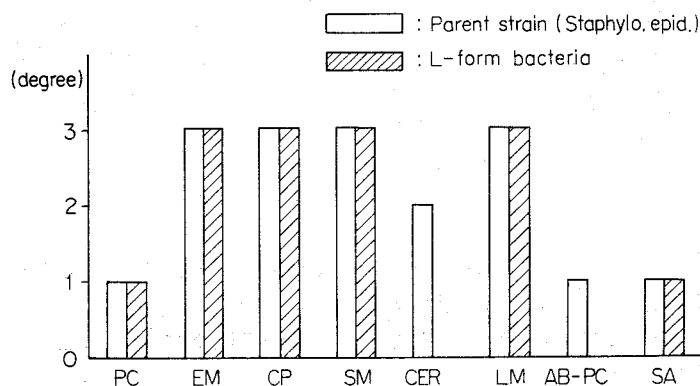


Fig. 26. Sensitivity test by tri-disc method (Eiken Chemi. co.).

せる水利尿法により尿流が改善され、その結果尿浸透圧が低下して陰性化をみる傾向にある。しかしながら、上記の方法でも陽性を示した症例に対しては、親株の薬剤感受性に応じて抗生物質を投与し同時にL型菌にも感受性のある薬剤を併用することによりL型菌感染症を治癒せしめることができると考えられる。

考 察

臨床的にL型菌が感染症において問題とされるようになったのは、L型菌が炎症作用を示す病原性がほとんどないに等しいにもかかわらず親株に復帰することにより病原性を発揮し、ために感染症の治癒遅延、再発、再燃といった慢性化諸相の1因子となっているのではないかと考えられるためである。これはL型菌の特徴として細菌の細胞壁形成がみられず、細胞壁をもつ親株に比して病原性に乏しいのではないと思われる。一般細菌が細胞壁を失って変異株となるのは、細菌の細胞壁合成阻害剤の投与の際や、ほかに lysozyme や血清などが作用する場合にも発生しやすくなるといわれている。

歴史的には、1935年 Klieneberger¹⁾ が *Streptobacillus moniliformis* 培養中L型菌の生成を発見したのが発端とされており、その後 Pierce²⁾、Dienes³⁾ が基礎的検討を加えて報告するようになった。尿中よりの検出は1951年 Voureka⁴⁾ が腎盂腎炎患者を加療中に見出したのが最初とされており、尿路感染症の分野では Guze⁵⁾、Kalmanson⁶⁾ などが、最近では Domingue⁷⁾、Guinan⁸⁾、本邦では、清水⁹⁾、奥村¹⁰⁾、高橋¹¹⁾、樋口^{12,13)}、荒木¹⁴⁾ などが臨床検討および基礎的実験成績を詳細に報告している。

検出方法として、L型菌培養に用いる培地作製について、著者は5%食塩を osmotic stabilizer として用い、基礎培地には Brain-Heart-Infusion (Difco) を用いて滅菌し、これに10%無菌馬血清を加えて作製する。次に採尿せる検体を孔径 0.45 μ millipore filter にて濾過せしめ、その0.25 mlをL型菌用培地に接種する。この方法は培地作製上では多少異なるものの諸家においても同様におこなわれている。検出される過程において、著者は光学顕微鏡下で固形培地上のL型菌の集落の生成過程を観察したところでは、大型細胞 (large body) が最初に出現し、やがて集落の中心部に顆粒状のL型菌が出現する型や、L型菌が最初に出現し次にその周囲に大型細胞 (large body) が出現する型および、この両者がほとんど同時に出現してくる型など3つの生成する姿を認めることができた。一方、これが液体培養の場合、白雲状の沈殿を生成し、これ

の一部を採ってスライドグラス上で Diens 染色を施して検鏡すると赤血球に似た単細胞の集落が認められる。

既述せるごとく、一般にL型菌感染症といわれるものは感染として成立してはいても、一般感染症にみられるような発症を必ずしも伴わず、L型菌の炎症性反応の程度の低いことに基因していると考えられるのである。L型菌は一般細菌がその細胞壁の形成不全に基づいて生ずるといわれており、したがって壁のもつ virulence に乏しく炎症性反応としての病原性が発揮されないのではないかと考えられる。

病理組織学的裏づけとして、Gutman¹⁵⁾ は *E. coli* 06 variant を rat に注射し、親株を注射した場合との関係を組織学的レベルで比較しているが、variant (L型菌) を投与した rat の腎組織は遊走細胞の浸潤が低度でしかも腎盂粘膜下組織に局限して認められたに過ぎず、感染レベルの低いことが判明したという。本邦でも樋口^{12,13)} は、*E. coli* K12 L-form を用いて実験動物の腎組織で観察しているが、腎盂粘膜下層において初期には好中球の浸潤をごく少量認め、後期にはリンパ球浸潤を軽度認めたと述べている。著者もL型菌の検出された腎の組織学的検索をおこなったものでも、腎盂粘膜下組織および腎間質組織にリンパ球の浸潤を認めるものの、糸球体、尿管などには炎症性反応による変化は認められなかった。すなわち腎盂粘膜下組織に、とくに乳頭部付近において炎症性反応が局限して認められるに過ぎず、腎盂腎炎の病理組織学的分類に当てはめてみると、ごく初期の pyelopapillitis の型をとっている。

次に腎組織内浸透圧について、Ofstad¹⁶⁾ は皮質、髓質、錐体などの各部位に分けて測定したところによれば、錐体のうちでも乳頭部が腎組織のうちでいちばん浸透圧が高く、おのおのの症例で最低 451 mOsm/L、最高 1,000 mOsm/L と高値に分布していたと報告している。著者は腎組織内浸透圧は測定しえず、したがって Ofstad の説に基づいて類推することになるが、L型菌は高浸透圧下環境を好適生存条件としているために、かかる乳頭部粘膜下組織を中心に生存していることが想像される。実際著者の場合も、腎乳頭部付近の粘膜下組織にリンパ球の浸潤を認めており、樋口のいう組織学的所見と一致している。以上L型菌による腎盂腎炎は、乳頭部粘膜下組織を中心に局限するものと考えられる。

次に薬理学的立場よりL型菌の発生誘因について考えてみると、細菌の細胞壁の合成を阻害する状態において出現するわけであるから薬剤濃度にも一定の範囲

があるのではないかと考えた。すなわち著者は、平板培地上で薬剤デスク法を用いてL型菌より復帰せる一般細菌の薬剤感受性を調べていたところ、その発育阻止帯上に変異株(L型菌)の出現を認めたことがあり、これにヒントを得てAB-PCを用いて薬剤濃度希釈培地を作成し発育増殖の状態を調べたところ、最小発育阻止濃度内でL型菌の増殖を認めた。また、これとは別にマウスを用いての*in vivo*の実験でCER投与例に非投与例と比較してL型菌が好発していることが判明し、細胞壁合成阻害剤を投与すると変異株(L型菌)の発生誘因になることも実証された。

それでは、この間の状況を分子レベルで考察するためにL型菌の細胞壁の代謝異常についてStrominger¹⁷⁾の説にもとづいて簡単に言及してみたい。細菌の細胞壁は、アラニン、グルタミン酸、リジン等を含む多糖類が網目状になったペプチドと結合して構成されている。この結合された状態はおよそ3段階を経て生成するといわれている。第1段階はウリジヌクレオチド前駆物質が生成し、第2段階においてこの前駆物質が細胞膜の脂質に付着し、第3段階でこの付着したところが従来の壁と網目構造を形成するようになる。この網目構造はtranspeptidationを含む機構より構成され、細胞膜の外側でアデノシン3リン酸が不活化された状態で存在する。これら第3段階において、ペニシリンやセファロスポリン系薬剤が投与された場合transpeptidaseと接触することによって反応を生じ、transpeptidaseを不活化させてしまうことで細胞壁合成機能不全に陥ってしまうのである。形態的には、細胞の壁合成に欠陥を生じ壁の一部に弱点が生ずるので原形質がその弱点から外に漏出するかわこうとなる。そして薬剤濃度により細胞壁の一部を残した形(spheroplast)、全く細胞壁がみられない形(protoplast)などが出現してくる。したがって、これらの変異株が生存するためには原形質内と同等の高浸透圧下環境を必要とする。

なお、一般にL型菌は時間の経過とともに親株に復帰しうるtemporary type (3B)と、復帰しないstable type (3A)とに分けて考えられているものの、尿路感染症の場合尿道炎のさい介在しているのではないかと考えられているmycoplasmaの問題¹⁸⁾があり、これはやはりL型菌のstable typeに似て親株が不明である。形態的にも類似しているため鑑別が困難であり分離同定(mycoplasma生成には脂質成分を培地中に必要とする)をおこなう必要がある。

最後にL型菌尿路感染症の治療法については、治療の項目でも述べたごとく尿浸透圧を低下せしめること

と、L型菌に感受性のある薬剤を投与することである。尿浸透圧を低下せしめるには、尿流改善をはかる手術法と尿量増大を目的とした水利尿法¹⁹⁻²¹⁾とがある。自験例に関して、これらの方法で尿浸透圧は相対的に100~200 mOsm/L低下するため腎盂内尿浸透圧も低下し、ためにOfstad¹⁶⁾の説に従えば、腎組織内でいちばん組織内浸透圧が高い乳頭部に影響を与えて組織内浸透圧も低下しL型菌は生存しえなくなり陰性化したものと考えられる。薬物療法については、手術療法、水利尿療法により尿浸透圧を低下せしめたにもかかわらず陰性化しない症例に対して、また、合併症のため手術不能な症例(腎結石症5例、前立腺肥大症3例など)に対して薬物投与したわけである。これは、L型菌はその生存期間中薬物による影響よりも浸透圧による影響のほうが大であると著者は考えたためである。実際、手術不能な症例では薬物投与により一時は陰性化を認めるものの投与中止するとほとんどの例で再発を示した。なお、L型菌薬剤感受性のある薬物は、既述せるごとく、リシコマイシン、エリスロマイシン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシンなどであり、著者はマクロライド系薬剤を親株に感受性のある薬剤と併用し、1週間常用量投与し手術で改善されてない症例にL型菌陰性化を認めた。しかしながら、薬物療法を中止したところ2例に再発をみた。この2例は術後も高浸透圧を示していた。L型菌感染症において細菌の細胞壁合成阻害剤を投与している症例に発生頻度が高く、荒木¹⁴⁾が指摘しているごとく医原性とまで表現しているほどでありその意味合いがあることも否定できない。しかしながら、江田ら²²⁾のごとく基礎実験上L型菌を活用することにより一般細菌にみられない感染機序に対して新しいapproachができるのではないかと意見も聞かれる。

結 論

1) 尿路感染症におけるL型菌の研究に関し、上部尿路疾患(94例)および下部尿路疾患(84例)について検討した。全例とも検査前5~7日間合成ペニシリンまたは、合成セファロスポリン系薬剤を常用量投与している。

2) その結果、術前上部尿路疾患22例(23.4%)、下部尿路疾患2例(2.4%)に検出例を認めた。また、これと対比する意味で細菌の細胞壁合成阻害剤以外の薬剤を投与せる症例50例をat randomに検討したが1例も検出されなかった。

3) 尿路L型菌検出例の臨床症状は著明ではないが、臨床検査データでは炎症反応がまだ亢進した感染

像で、感染の再発、再燃などのいわば準備状態にあり、このような状態で検出されるL型菌はあたかも inflammatory latent factor としての役割を果たしているかのごとき印象を受ける。そして、生体内においてL型菌生成には、一般細菌の細胞壁合成阻害を惹起せしめる agents (薬剤, lysozyme, 血清など) に接触することが必要であり、また、生存するためには高浸透圧下環境が必要となってくる。

4) 尿路L型菌感染症の治療法は、まず尿浸透圧を低下せしめることが必要であり、この意味合いから手術療法と水利尿療法とが挙げられる。その後、L型菌に感受性のある薬剤を投与する薬物療法を考える。実際、術前24例のうち、手術療法により改善をみたのは20例であり、また、尿管結石症10例に対して水利尿療法をおこない8例に改善をみた。上記療法で改善を認めなかった6例に対し薬物療法としてL型菌に感受性のある macrolide 系薬剤を常用量5～7日間投与することにより全例に改善を認めた。しかしながら、投薬を中止したところ6例中2例には再発をみた。合併症のため手術不能の症例(5例)では薬物投与により一時全例改善するものの、投薬を中止するとほとんどの症例に再発を認めた。これらは、尿浸透圧を低下せしむる器質的改善がじゅうぶんでないと完治は困難であることを物語っている。

5) 以上、抗生物質のうちでとくに細菌の細胞壁合成阻害剤を多く使用せる症例にL型菌の出現が多いわけ、一面医原性の感がなきにしもあらずであるが、しかしながら現在の感染治療薬を代表するといわれている合成ペニシリン剤や、合成セファロスポリン剤が使用されている以上、かかる inflammatory factor の潜在性も考慮に入れる必要があり、したがって尿路感染症の場合、とくに実質臓器として高浸透圧環境を保持する腎実質が介在する以上、L型菌を研究検討する必要性は大であるといえる。

本論文の主旨は、第58, 60回日本泌尿器科学会総会、および、第19, 20回日本化学療法学会総会において発表した。

稿を終るに当り指導に当たってくださった高井修道教授、西村隆一助教授に謝意を表します。また、基礎的な面でご助言をいただいた細菌学教室田所一郎教授、現帝京大学江田亨助教授にもお礼申し上げます。症例の一部は、横浜市民病院福島修司医長の好意により掲載しました。本研究には文部省研究費を当てさせていただいたことを付記します。

文 献

- 1) Klieneberger, E.: J. Path. Bact., **40**: 93, 1935.
- 2) Pierce, C. H.: J. Bact., **43**: 780, 1942.
- 3) Dienes, L.: J. Bact., **59**: 755, 1950.
- 4) Vourekka, A.: Lancet, **1**: 27, 1951.
- 5) Guze, L. B. & Kalmanson, G. M.: Science, **146**: 1299, 1964.
- 6) Kalmanson, G. M. & Guze, L. B.: J. A. M. A., **190**: 1107, 1964.
- 7) Domingue, G. J. & Schlegel, J. U.: J. Urol., **104**: 790, 1970.
- 8) Guinan, P. D., Neter, E. & Murphy, G. P.: J. Urol., **108**: 50, 1972.
- 9) 清水喜八郎・島田 馨・奥村有史: 日本臨床, **25**: 87, 1967.
- 10) 奥村有史: 日腎誌, **10**: 489, 1968.
- 11) 高橋昭三: メディヤサークル, **99**: 51, 1968.
- 12) 樋口正士: 日泌尿会誌, **61**: 427, 1970.
- 13) 樋口正士: 日泌尿会誌, **61**: 448, 1970.
- 14) 荒木 徹: 西日泌尿, **33**: 156, 1971.
- 15) Gutman, L. T., Winterbauer, R. H., Turck, M., Wedgwood, R. J. & Petersdorf, R. G.: Microbial Protoplast, Spheroplast and L Forms, p. 391, 1968.
- 16) Ofstad, J.: Scand. J. Clin. Lab. Invest., **121**: 95, 1968.
- 17) Strominger, J. L.: Biology of Pylonephritis (edited by Quinn, E. L.) p. 613, Little, Brown and Company, Boston, Massachusetts, 1959.
- 18) Hofstetter, A. und Schmiedt, E.: Der Urologe, **4**: 200, 1970.
- 19) Andriole, V. T. & Epstein, F. H.: J. Clin. Invest., **44**: 73, 1965.
- 20) Eastridge, Jr., R. R. & Farrar, Jr., W. E.: Proc. Soc. Exp. Biol., **128**: 1193, 1968.
- 21) 樋口正士: 西日泌尿, **32**: 255, 1970.
- 22) 江田 亨・松岡俊介・田所一郎: 日細菌誌, 27, 第1報 657, 第2報 795, 第3報 801, 1972.

(1976年5月20日受付)

本論文訂正

P715 Fig. 24 post-therapy の最上段2つの○を●に訂正