

大腸癌症例の便中細菌叢

横浜市立大学第2外科

久保 章 川本 勝 石黒 直樹
 杉田 昭 仲野 明 大見 良裕
 辻仲 康伸 福島 恒男 土屋 周二

CHANGES OF FECAL MICROFLORA IN PATIENT WITH LARGE BOWEL CARCINOMA

Akira KUBO, Masaru KAWAMOTO, Naoki ISHIGURO,
 Akira SUGITA, Akira NAKANO, Yoshihiro OHMI,
 Yasunobu TSUJINAKA, Tsuneo FUKUSHIMA and
 Shuji TSUCHIYA

Second Department of Surgery, Yokohama City University

大腸進行癌55症例について、腫瘍占拠部位、出血、狭窄症状の有無などにわけて便中細菌叢を検索した。対照群と比較して本症では、総菌数、嫌気性菌数の有意の減少が認められたが、好気性菌については変動は認められなかった。嫌気性菌のなかでは、Clostridium perfringensのみが直腸癌症例で有意に増加していた。腫瘍の占拠部位、出血の有無による細菌叢の変動は認められなかった。

本症例における便中総菌数、嫌気性菌数の減少は、疫学的に明らかにされている dietary fiber の減少による酸化・還元電位の増加、腸管内環境の変化などによるものと考えられた。

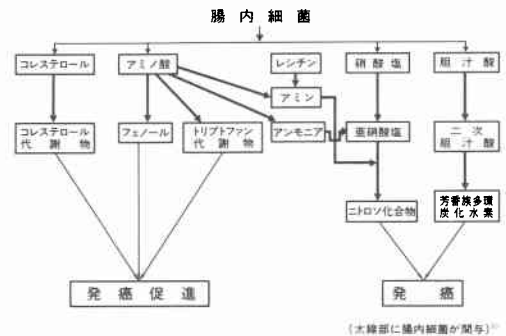
索引用語：大腸癌，便中細菌叢，嫌気性菌

はじめに

大腸癌は近年本邦で漸増しており、食事成分、胆汁酸、腸内細菌による発癌または発癌促進物質などの関与が知られている。すなわち、胆汁酸をはじめとする内因性物質、食事成分などそれ自体によるものと、これらがある種の腸内細菌によって分離され、発癌または発癌促進物質に変換される場合の2種類の可能性が考えられる。後者の例としては、腸内細菌が胆汁酸に作用し芳香族多環炭化水素、あるいは硝酸塩やアミノ酸由来のアミン、アンモニアに作用したニトロ化合物を産生し発癌に関与していることなどがあげられる。またその他に、コレステロールに作用して生ずる代謝物や、アミノ酸に作用して生ずるフェノール、トリプトファン代謝物は、発癌促進作用を有する(図1)¹⁾。

われわれはこれらを解明する上での一手段として、大腸癌症例の便中細菌を培養し、罹患部位、出血、狭窄症状の有無などと、細菌叢の特異性との関係を明らかにしようと試みた。

図1 腸内細菌と大腸癌の関係



対 象

横浜市立大学・第2外科に入院した大腸癌(早期癌を除く)症例55例を対象とした。男女比は27:28, 平均年齢は, 54.7歳である。症例の内訳は, 直腸癌40例(Rs 3例, Ra 13例, Rb~P 24例) 結腸癌15例(S状結腸6例, 盲腸3例, 上行結腸3例, 横行結腸2例,

表1 結腸癌症例の腫瘍の部位、環周度および排便状況

腫瘍の占拠部位	盲腸～上行結腸	6
	横行行結腸～下行結腸	3
腫瘍の環周度	S状結腸	6
	1/2 未満	1
	1/2 以上	10
排便回数	全周性	4
	1日 3回未満	12
	1日 3～5回	2
下痢の有無	1日 6～10回	1
	有	4
便秘の狭小化 (狭窄症状)	無	11
	有	4
出血の有無	無	11
	有	4
病悩期間	3ヶ月未満	3
	6ヶ月未満	5
	6ヶ月以上	7

表2 直腸癌症例の腫瘍の部位、環周度および排便状況

腫瘍の占拠部位	Rb～P	24
	Ra	13
	Rs	3
腫瘍の環周度	1/2 未満	6
	1/2 以上	22
	全周性	12
排便回数	1日 3回未満	33
	1日 3～5回	4
	1日 6～10回	3
下痢の有無	有	7
	無	33
便秘の狭小化 (狭窄症状)	有	24
	無	16
出血の有無	有	36
	無	4
病悩期間	3ヶ月未満	12
	6ヶ月未満	8
	6ヶ月以上	20

下行結腸1例)である。

各症例の腫瘍の占拠部位、環周度、排便状況および出血、狭窄症状などは、表1、2に示したとおりである。

方法

病院食、腸管の preparation などの影響のない入院翌日に糞便を採取し、嫌気ポーターを使用して、嫌氣的に運搬した。

便中細菌叢の検索は光岡の方法²⁾に準拠して、3種の非選択培地と、10種の選択培地を併用して施行した

表3 便中細菌叢又検索に使用した培地の種類および培養法

	培地の種類	培養法
非 選 択 培 地	TS培地	好気性培養
	EG寒天培地	
	BL寒天培地	
選 択 培 地	DHL寒天培地	好気性培養
	変法PEES寒天培地	
	P培地	好気性培養
	BS寒天培地	
	CS寒天培地	
	NBGT寒天培地	
	NN培地	
	変法VS寒天培地	
	変法LBS寒天培地	
	TATAC寒天培地	

(表3)。

好気性菌および通性嫌気性菌(以下両者を好気性菌とする)については24～48時間好気性培養を行い、偏性嫌気性菌(以下嫌気性菌とする)については48時間 Gas Pak 法を用いて嫌気性培養を施行した。培養後、集落の形態と、グラム染色標本の顕微鏡的観察により菌群の同定を行った。その後、各菌群の便1g中の菌数を計算し、すべて常用対数で示した。統計学的有意差の検定はt検定で行なった。

結果

① 便中総菌数および細菌叢：

総菌数は対照群の 11.4 ± 0.2 と比較して、大腸癌症例全体では 10.5 ± 0.6 と有意に減少していた($p < 0.001$)。嫌気性菌群では Clostridium perfringens に増加の傾向が認められた他は、すべて癌症例で有意に減少していた($p < 0.01$ または $p < 0.001$)。好気性菌群のうち Lactobacillus, Enterobacteriaceae, Streptococcus などには、有意の変化を認めることはできなかった(表4)。

大腸癌のうち直腸癌症例について健常対照群と比較すると Clostridium perfringens の有意の増加が認められた($p < 0.05$)。その他の細菌については Bacteroidaceae, Eubacterium, Peptococcaceae など主な嫌気性菌の有意の減少が認められた($p < 0.001$)。好気性菌群では、有意差は認められなかった(表5)。

結腸癌症例では直腸癌症例と同様に、主な嫌気性菌群の有意の減少が認められた($p < 0.01$ または $p < 0.001$)。好気性菌群については増加しているもののみ認められたが、有意差は認められなかった(表6)。

表4 大腸癌症例の便中細菌叢 (mean±1S.D.)

log 10/g		対照群 (n=12)	大腸癌症例 (n=55)
Total Counts		11.4±0.2**	10.5±0.6**
Bacteroidaceae		11.1±0.4**	10.2±0.6**
Eubacterium		10.3±0.5**	8.8±1.1**
Peptococcaceae		10.2±0.2**	9.5±0.8**
Bifidobacterium		9.8±0.6*	9.0±1.3*
Veillonella		7.2±1.4*	5.7±2.0*
C. perfringens		5.2±1.0	5.5±1.8
C. other		9.8±0.6*	8.7±1.3*
Lactobacillus		6.0±2.0	6.1±2.1
Streptococcus		7.8±0.8	7.6±1.7
Enterobacteriaceae		8.1±1.2	8.0±1.1
Micrococcaceae		4.0±1.0	4.5±2.1
Yeasts		3.2±1.8	4.5±1.9

* P<0.01
** P<0.001

表6 結腸癌症例の便中細菌叢 (mean±1S.D.)

log 10/g		対照群 (n=12)	結腸癌症例 (n=15)
Total Counts		11.4±0.2***	10.5±0.5***
Bacteroidaceae		11.1±0.4***	10.2±0.5***
Eubacterium		10.3±0.5***	8.7±0.8***
Peptococcaceae		10.2±0.2***	9.5±0.8***
Bifidobacterium		9.8±0.6*	9.2±0.5*
Veillonella		7.2±1.4**	5.2±2.7**
C. perfringens		5.2±1.0	5.1±1.9
C. other		9.8±0.6**	8.7±0.8**
Lactobacillus		6.0±2.0	6.1±2.1
Streptococcus		7.8±0.8	7.6±1.8
Enterobacteriaceae		8.1±1.2	8.4±0.9
Micrococcaceae		4.0±1.0	5.1±2.1
Yeasts		3.2±1.8	5.8±2.0

* P<0.05
** P<0.01
*** P<0.001

表5 直腸癌症例の便中細菌叢 (mean±1S.D.)

log 10/g		対照群 (n=12)	直腸癌症例 (n=40)
Total Counts		11.4±0.2***	10.5±0.6***
Bacteroidaceae		11.1±0.4***	10.2±0.7***
Eubacterium		10.3±0.5***	8.8±1.2***
Peptococcaceae		10.2±0.2**	9.5±0.8**
Bifidobacterium		9.8±0.6*	8.9±1.5*
Veillonella		7.2±1.4	6.0±1.5
C. perfringens		5.2±1.0*	5.7±1.7*
C. other		9.8±0.6	8.8±1.4
Lactobacillus		6.0±2.0	6.1±2.0
Streptococcus		7.8±0.8	7.6±1.6
Enterobacteriaceae		8.1±1.2	7.9±1.1
Micrococcaceae		4.0±1.0	4.2±2.1
Yeasts		3.2±1.8	3.9±1.5

* P<0.05
** P<0.01
*** P<0.001

表7 大腸癌症例の便中細菌検出率 (%)

	対照群	結腸癌	直腸癌
Bacteroidaceae	100	100	100
Eubacterium	100	75	100
Peptococcaceae	100	63	79
Bifidobacterium	100	88	95
Veillonella	79	75	63
C. perfringens	45	38	47
C. other	67	88	74
Lactobacillus	90	88	95
Streptococcus	100	88	100
Micrococcaceae	100	25	21
Enterobacteriaceae	100	100	95
Yeasts		50	42

表8 大腸癌症例の出血例・非出血例の便中細菌叢 (mean±1S.D.) log 10/g

	出血例 (n=40)	非出血例 (n=15)
Total Counts	10.4±0.5	10.6±0.4
Bacteroidaceae	10.1±0.4	10.2±0.3
Eubacterium	8.7±1.0	8.8±0.9
Peptococcaceae	9.3±0.6	9.6±0.8
Bifidobacterium	8.6±1.2	9.2±0.8
Veillonella	5.6±2.2	5.7±1.4
C. perfringens	5.6±1.6	5.5±1.4
C. other	8.6±1.0	8.9±1.2
Lactobacillus	6.0±1.8	6.3±1.4
Streptococcus	7.4±1.4	7.7±1.6
Enterobacteriaceae	8.2±1.2	7.9±1.0
Micrococcaceae	4.8±1.8	4.2±1.2
Yeasts	4.3±1.2	4.6±1.6

② 嫌気性菌数・好気性菌数比：

健常人では平均ほぼ 10^3 であったが、大腸癌症例では、嫌気性菌は増加するが好気性菌群の変動がないため著しく低下し、結腸癌では平均 7×10 、直腸癌症例では、 1.6×10^2 であった (図2)。

③ 各菌の便中検出率：

大腸癌症例と健常対照群と比較検討したが、両者の間に差は認められなかった (表7)。

④ 肉眼的出血および狭窄症状の有無と便中細菌叢 (表8, 9)：

これらの症状の有無と便中細菌叢の間には、有意差は認められなかった。

図2 大腸癌症例の嫌気性菌/好気性菌数比 (AN/AE 比)

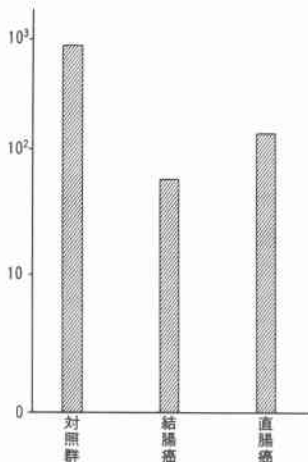


表9 大腸癌症例の便中細菌叢 (mean±I.S.D) log 10/g

	狭窄症状 有症例 (n=28)	狭窄症状 無症例 (n=27)
Total Counts	10.3±0.4	10.6±0.5
Bacteroidaceae	10.1±0.3	10.3±0.4
Eubacterium	8.4±0.8	9.0±0.6
Peptococcaceae	9.6±0.4	9.3±0.3
Bifidobacterium	8.6±0.8	9.2±0.7
Veillonella	5.9±1.6	5.4±1.2
C. perfringens	5.4±1.4	5.7±1.2
C. other	8.8±1.0	8.7±0.8
Lactobacillus	6.2±1.8	6.0±1.4
Streptococcus	7.3±1.3	7.8±1.4
Enterobacteriaceae	8.1±0.7	7.8±0.9
Micrococcaceae	4.8±1.6	4.3±1.1
Yeasts	4.1±1.2	4.8±1.5

考 察

大腸癌症例55例の便中細菌についてみると、健常人と比較し結腸癌、直腸癌ともに、総菌数の減少と、Bacteroidaceae, Eubacterium, Peptococcaceaeなどの主な嫌気性菌群の有意の減少が認められた。しかし、好気性菌群の有意の変動は認められなかった。嫌気性菌群では、*Cl. perfringens*のみは増加の傾向を示し、直腸癌症例では、対照群と比較し有意差が認められた。

大腸癌と腸内細菌あるいは、細菌代謝物との関係については、数多くの報告がみられる。Drasarら³⁾は大腸癌発生率と便中細菌叢の関連を疫学的に調査しているが、発生率の低い国では *Bacteroides* の検出菌数は低く、*Enterococcus* の増加があると報告している。

Hillら⁴⁾も同じように報告している。しかし、Mooreら⁵⁾はこれとは別に各国別に疫学的調査を施行しているが、*Bacteroides* の検出菌数に関しては Drasarらとは逆の結果を報告している。

Marksら⁶⁾は大腸癌症例と健常人の便中細菌叢を比較しているが有意差は認められないと報告している。

Finegoldら⁷⁾は直腸ポリープの患者でも、健常人と比較して便中細菌叢に有意差はないと報告している。しかし、これとは逆に下山ら⁸⁾は健常人のそれと比較・検討した結果、大腸ポリープ症例では *Streptococcus* の有意の増加、*E. coli* の減少、*Bacteroidaceae*, *Bifidobacterium*, *Peptococcaceae* の有意の減少が認められると報告している。著者らの今回の検索では、大腸早期癌症例の検索は施行していないが、腸内細菌と大腸癌の関係をさらに明らかにするためには、早期癌症例の便中細菌叢の検索が今後是非とも必要であると考えられる。

一方、Hoffman⁹⁾は大腸癌患者では、*E. coli*, *Streptococcus* の増加、*Bacteroidaceae*, *Bifidobacterium* の減少が認められると報告している。

本邦では、前記の下山らの報告の他、金沢ら¹⁰⁾、辨野¹¹⁾らにより大腸癌患者の便中細菌叢検索が試みられている。まず金沢らは、*Veillonella* の出現頻度が多い他は、便中細菌叢に特に差は認められないと報告している。一方、辨野らは *Eubacterium*, *Bacteroides melaninogenicus* の有意の増加が認められるものの他の細菌には、差が認められないと報告している。

このように、諸家の報告により大腸癌の便中細菌についてはかなり相違が認められる。それ故、腸内細菌叢の検索のみならず、細菌代謝物、dietary fiberなども検索して行くことが必要であらう。Kay¹²⁾らは dietary fiber と便中 sterol の関係について述べているが dietary fiber の経口摂取量が増加すると、発癌物質の濃度が低下し発癌率が低下するのではないかと報告している。dietary fiber と短鎖脂肪酸および腸内細菌の関係については著者ら¹³⁾もすでに報告をしている。

著者¹³⁾らは先に潰瘍性大腸炎症例の便中細菌叢について報告した。同症例の活動期症例と緩解期症例について比較検討すると、嫌気性菌の一部に有意の減少があり、また左側大腸炎型、直腸炎型の便中総菌数にも有意の減少が認められ、この一因として粘膜からの出血および分泌物などによる腸管内環境の変化が考えられた¹⁴⁾¹⁵⁾。しかし、われわれは今回大腸癌について、出

血, 狭窄症状の有無にわけて, それぞれ比較・検討したが, 潰瘍性大腸炎症例とは異なり, その間に有意差を認めることはできなかった。

前述のように, 大腸癌症例では総菌数および嫌気性菌数の有意の減少が認められた。これは, 何らかの機序で大腸内の酸素張力の増加, 酸化・還元電位の増加がおこっていることを意味する。一般に, 大腸癌症例では, dietary fiber の摂取量の不足が, 個別的にも疫学的にも明らかにされているが⁵⁾, ここに dietary fiber の酸素張力および酸化・還元電位の低下作用, 逆に言えば fiber 不足時の両者の増加¹⁶⁾ が嫌気性菌数減少の一因をなしていると考えてよいであろう。また, fiber の減少は, 腸内細菌の腸管上皮への定着を困難にするとの報告¹⁶⁾ もあり, 腸内細菌減少に一役買っているのではないかと考えられる。

著者ら¹⁷⁾は大腸癌患者の便中 phenol, p-cresol を検索しているが, 両者ともに健康人に比べ検出率が有意に高値を呈した。今後, phenol, p-cresol のみならずいわゆる発癌あるいは発癌促進物質についてどの細菌が高率にこれらを産生するか, in vitro での検索もさらに必要になると考えられる。

結 論

大腸癌症例の便中細菌叢について腫瘍の占拠部位, 出血, 狭窄症状の有無などにわけて検討した。その結果, 出血, 狭窄症状の有無では差が認められなかったが, 直腸癌結腸癌ともに, 総菌数, 主な嫌気性菌群の有意の減少が認められた。また直腸癌では, *Clostridium perfringens* の有意の増加が認められた。今後, 菌種レベルまでの特異的なパターンの有無や, 発癌あるいは発癌促進物質などについて, 腸内細菌のいずれがこれらの産生に深いかかわりあいをもっているか, などを明らかにしていく必要があると考えられた。

文 献

- 1) 光岡知足: 消化器病と細菌。東京, 医事出版社, 1980, p5-28
- 2) 光岡知足: 腸内常在菌叢。臨検 23: 320-344, 1979
- 3) Drasar BS, Hill MJ: Intestinal bacteria and

- cancer. AM J Clin Nutr 25: 1399-1404, 1972
- 4) Hill MJ, Crowther JS, Drasar BS et al: Bacteria and aetiology of cancer of large bowel. Lancet 1: 95-100, 1971
- 5) Moore WEC, Holdeman LV: Discussion of current bacteriological investigation of the relationships between intestinal flora, diet, and colon cancer. Cancer Res 35: 3418-3420, 1975
- 6) Marks CG, Hawley PR: The effects of phthalylsulphathiazole on the bacteria of the colonic mucosa and intestinal contents as revealed by the examination of surgical samples. Scand J Gastroenterol 14: 891-896, 1979
- 7) Finegold MJ, Flord DJ: Fecal bacteriology of colonic polyp patients and control patients. Cancer Res 35: 3407-3414, 1975
- 8) 下山 孝, 大浜 庸, 里見匡迪ほか: 腸内細菌叢とその病態像。最新医学 33: 2047-2056, 1978
- 9) Hoffman K: Untersuchungen uber die Beeinflussung der Stuhlflora durch Krankheiten. Ernahrungsforschung 10: 405-410, 1965
- 10) 金沢暁太郎: 大腸癌と腸内細菌叢の変動。最新医学 33: 2057-2061, 1978
- 11) 辨野義己, 光岡知足: 癌患者の腸内フローラ。光岡和足編。腸内フローラと発癌。東京, 学会出版センター, 1981, p9-27
- 12) Kay RM: Effects of diet on the fecal excretion and bacterial modification of acidic and neutral steroids, and implications for colon carcinogenesis. Cancer Res 41: 3774-3777, 1981
- 13) 川本 勝, 福島恒男, 久保 章ほか: 潰瘍性大腸炎症例の便中細菌と短鎖脂肪酸。日消病会誌 79: 193-198, 1982
- 14) Goligher JC: Ulcerative colitis. London, Tindell Balliere, 1968, p32-33
- 15) Fairburn RA: On the etiology of ulcerative colitis. A vascular hypothesis. Lancet 1: 697-699, 1973
- 16) Savage DC: Factors involved in colonization of the gut epithelial surface. Am J Clin Nutr 31: 131-135, 1978
- 17) 福島恒男, 川本 勝, 久保 章ほか: 大腸疾患と腸内細菌代謝物。日消外会誌 16: 552-556, 1983