

TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE 及びその 関係化合物の皮膚科的応用に関する実験的研究

第Ⅳ編 白癬菌の酸素消費に及ぼす

TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE の影響

昭和34年12月28日 受付

信州大学医学部薬理学教室 (主任: 赤羽治郎教授)

丹羽源之助

Experimental Studies on Dermatological Application of TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE and Its Related Compounds

IV. Effects of TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE on the Oxygen Uptake in Trycophyton

Gennosuke Niwa

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director; Prof. J. Akabane)

緒言

著者^{①③④}はさきに、Thiuram 系有機硫黄化合物 Tetraethylthiuramdisulfide (TETD) の病原性白癬菌にたいする抗菌力を実験し、in vitro にてその一定以上の濃度において bacteriostatic に、あるいは bacteriocidal に作用することを報告した。

TETD の抗菌作用機序についてはいまだ明かでない、またこれに関する報告もみあたらない。さきに赤羽・河村^④らは TETD のマウス各臓器の O_2 消費量について、また松岡・伊吉美^⑥らは TETD および関係化合物の Xanthine oxidase activity および Catalase activity にたいする影響を検討して報告している。著者はこれらの実験に関連して TETD の抗菌作用機序をうかがうための一助として、白癬菌の組織呼吸に及ぼす TETD の影響について実験した。

実験方法

被検菌: 猩紅色菌, *Trichophyton fubrus* (T. fubrus)。

菌の培養: 28°C の 4% Sabouraud glucose bouillon 斜面培養。

菌試料のつくりかた: 白癬菌は一般に他の細菌類に比較して、自家呼吸が大きく、検圧法による測定のさい正確な実験結果をうるに困難なので、あらかじめ適当な飢餓操作を行つた。すなわち培養器から菌苔を注意してとりだし、菌苔の下に附着している培養液を除き、滅菌生理食塩水で菌苔の裏面を軽く洗い、つぎに

生理食塩水を入れたビーカーのなかに浮べ、ビーカーの上部を有孔のセロファン紙でおおい、28°C に保つたフラスコ内に 5h 放置した。つぎに飢餓操作を行つた菌苔の裏を、生理食塩水で洗い、乾燥した濾紙の上に拡げ、濾紙を数回交換して菌に附着する水分を除き、ハサミを用いて適当な大きさに切つて、小片とし、各 60mg つに秤量した。実験には菌苔そのものを用いたが、さらにまた無菌箱内でメノウ鉢にて菌苔が均一になるまですりつぶして、ホモジネートとして用いた。

実験操作: 菌の組織呼吸測定は Warburg 検圧法^⑧ ⑦によつた。容器の主室には、40% Polyethylene glycol 400 (以下 PEG と略記) 一生理食塩水 2.7ml を入れ、菌苔をおさめた。このさい菌苔の表面が水に没しないように、振とうの速度をなるべく遅くした。容器中の気相は空気とし、実験温度は 28°C とした。なおホモジネートを用いるときは (菌の種 60mg にたいし生理食塩水 0.3ml を加えたもの) をピペットで 0.3ml ずつとり、容器の主室内の溶液は 2.4ml とし、これに加えた。副室中には 20% KOH 0.3ml を入れた。TETD 粉末はじょうぶん微細末にすりつぶしたのち、PEG 一生理食塩水溶液 (主室中に入れた液と同じ組成) に混じ、その 0.3ml を側室中に入れ、反応液中の最終濃度は $1:10^{-4}$ および $1:10^{-5}$ になるようにした。反応液の PH は 5.8 である。

対照としては TETD を含まない反応液中の組織呼吸を測定したが、A) 生理食塩水、B) PEG-生理食塩水の 2 種を区別した。測定は反応開始後 2h まで

30^mごとに行つた。

実験成績

I 猩紅色菌菌苔の組織呼吸

第1表および第1図に示すように TETD 添加によつて、実験例の大部分において、O₂ 消費量の減少傾向が認められたが、推計学的には有意の差ではなかつ

た(第1表, 1図)。

生理食塩水(対照 A)と、PEG-生理食塩水(対照 B)とでは、O₂ 消費量に差があり、後者では前者より減少しており、PEG 添加も組織呼吸を阻害しているようにみえるが、推計学的には有意の差ではなかつた。しかし TETD-PEG(実験 C および D)においては、PEG-生理食塩水(対照 B)よりもさらに低い

第1表 猩紅色菌における O₂ 消費量 (単位 cmm)

時間	実験群	A 生理的食塩水 (対照)	B 生理的食塩水 -PEG(対照)	C TETD(1:10 ⁻⁵) -PEG	D TETD(1:10 ⁻⁴) -PEG
0 ~ 30 ^m		19.2 ± 11.0	13.0 ± 8.3	10.5 ± 6.3	11.1 ± 11.5
30 ^m ~ 1h		27.7 ± 8.1	20.5 ± 7.5	15.4 ± 6.4	16.7 ± 5.7
1h ~ 1h30 ^m		26.7 ± 12.0	20.0 ± 8.0	15.2 ± 7.8	17.1 ± 8.0
1h30 ^m ~ 2h		12.3 ± 7.5	10.9 ± 6.2	8.4 ± 4.0	8.4 ± 4.0
2h までの合計		87.7 ± 42.7	64.3 ± 26.1	55.4 ± 28.1	51.2 ± 24.1

AとB…… $F_0^1 = 1.66 < F_0^1(0.05) = 5.32$

AとC…… $F_0^1 = 3.03 < F_0^1(0.05)$

AとD…… $F_0^1 = 4.21 < F_0^1(0.05)$

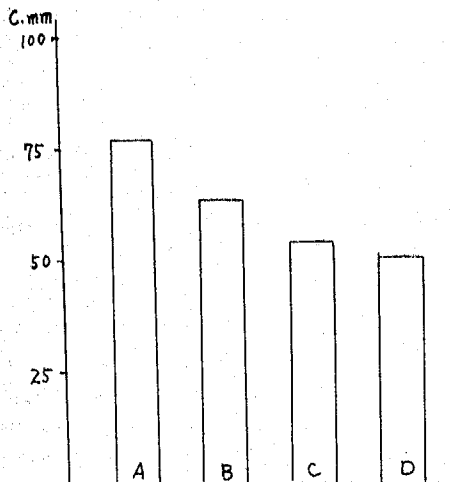
BとC…… $F_0^1 = 0.41 < F_0^1(0.05)$

BとD…… $F_0^1 = 1.01 < F_0^1(0.05)$

減少率(%):

$\frac{B-C}{B} = 19.6$

$\frac{B-D}{B} = 18.7$



(註) (A) 生理食塩水(対照)
 (B) 生理食塩水-PEG(対照)
 (C) TETD (1:10⁻⁵)-PEG
 (D) TETD (1:10⁻⁴)-PEG
 (2h までの総 O₂ 消費量)

第1図 猩紅色菌における O₂ 消費量

O₂ 消費値が示された。とくに生理食塩水(対照 A)と TETD-PEG 実験 D においては、実験例がすこし不足するため推計学的に有意ではないが、かなりの差があることが認められた ($F_0^1 = 4.21 < F_0^1(0.05)$)。PEG-生理食塩水(対照 B)にたいする TETD-PEG 実験においては、TETD 濃度が 1:10⁻⁵(実験 C) および 1:10⁻⁴(実験 D) の場合の 2h 後の減少率 ($\frac{B-C}{B}$ または $\frac{B-D}{B}$) をみると、各例の平均値はそれぞれ C (1:10⁻⁵) においては 19.6%、D (1:10⁻⁴) においては 18.7%であつて、これら両濃度のあいだには有意の差は認められなかつた。

つぎに菌の組織呼吸を時間的に追つてみると、対照にても TETD 添加実験にても、ともに反応開始後の 30^m における O₂ 消費値は小で、1~1h30^m に大となり、2h 値はふたたび小となつてゐる。TETD の組織呼吸阻害効果は、最初の 30^m 値においてはいずれの例でも明らかではない。また、1h 値、1h30^m 値および 2h 値においては、対照値に比較して阻害効果あるようにみえるが、やはり推計学的には有意の差とは認められなかつた。

第2表

T. fubrus における O₂ 消費量

(単位 cmm)

時間	実験群	A 生理食塩水 (対照)	B 生理食塩水 -PEG(対照)	C TETD (1:10 ⁻⁵) -PEG	D TETD (1:10 ⁻⁴) -PEG
0 ~ 30 ^m		12.7 ± 11.8	8.9 ± 9.0	8.5 ± 7.5	8.6 ± 8.1
30 ^m ~ 1 ^h		22.5 ± 11.3	18.0 ± 9.4	16.9 ± 7.7	15.0 ± 7.8
1 ~ 1 ^h 30 ^m		17.8 ± 3.8	14.2 ± 6.0	12.9 ± 5.3	11.7 ± 4.5
1 ^h 30 ^m ~ 2 ^h		10.2 ± 4.4	7.5 ± 4.3	6.5 ± 4.8	7.5 ± 4.1
2 ^h までの合計		63.7 ± 31.1	48.5 ± 27.4	44.4 ± 23.1	42.8 ± 24.0

$$A \text{ と } B \cdots \cdots F_0^1 = 1.02 < F_8^1 (0.05)$$

$$A \text{ と } C \cdots \cdots F_0^1 = 1.89 < F_8^1 (0.05)$$

$$A \text{ と } D \cdots \cdots F_0^1 = 2.19 < F_8^1 (0.05)$$

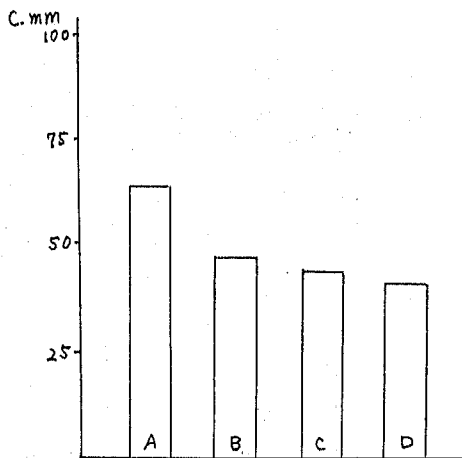
$$B \text{ と } C \cdots \cdots F_0^1 = 0.10 < F_8^1 (0.05)$$

$$B \text{ と } D \cdots \cdots F_0^1 = 2.19 < F_8^1 (0.05)$$

減少率 (%):

$$\frac{B-C}{B} = 7.8$$

$$\frac{B-D}{B} = 11.6$$



- (註) (A) 生理食塩水 (対照)
 (B) 生理食塩水-PEG (対照)
 (C) TETD (1:10⁻⁵)-PEG
 (D) TETD (1:10⁻⁴)-PEG
 (2^h までの総 O₂ 消費量)

第2図 T. fubrus における O₂ 消費量

II T. fubrus 菌苔の組織呼吸

第2表, 第2図に示すように, 生理食塩水 (対照 A) と, PEG-生理食塩水 (対照 B) とは有意の差はない (第2表, 2図)。

TETD-PEG (実験 C および D) では, ある程度の阻害効果がみられるが, C (1:10⁻⁵) および D (1:10⁻⁴ 濃度) における TETD 濃度差はほとんど認められない。すなわち PEG-生理食塩水 (対照 B) にたいする TETD-PEG 実験の 2^h 後の総計 O₂ 減少率

を平均値で見ると, C (1:10⁻⁵) において 7.8% はであり, D (1:10⁻⁴) においては 11.6% である。すなわち T. fubrus においては, 阻害効果が小であることがわかる。また実験例中の 2 例では, ほとんど阻害効果が認められなかった。O₂ 消費量を時間的に追ってみると, 反応開始後の 30^m 値は小で, 1 ~ 1^h30^m は値大で, 2^h 値はふたたび小となっている。そして TETD の阻害効果のみられた例では, その効果は最初の 30^m 値では明らかでなく, 1^h 値から大となっている。しかし以上の成績も推計学的に差は有意ではないことを認めた。

III 菌ホモジネートを使用した場合の組織呼吸

猩紅色菌および T. fubrus のいずれにおいても, 菌ホモジネートの組織呼吸を測定した実験では, ともに呼吸量が非常にわずかであるか, あるいは全く呼吸能を失つて, TETD 添加による阻害効果を認めえなかった。

考 察

TETD がこれら白黴菌の組織呼吸に若干の阻害効果をおよぼすらしいことを知りえたが, いずれも推計学的には有意の差を認るに至らなかった。すなわちここで示された阻害効果は, 阻害薬物濃度が比較的高濃度であるにもかかわらず, 著明な効果とはいえず, 完全阻止例は 1 例もなく, また T. fubrus においては, 無効果の例も約半数においてみられた。さきに著者は in vitro および in vivo の実験で, TETD の抗菌作用は猩紅色菌にくらべて, T. fubrus にたいしては弱

いことを報告したが、組織呼吸阻害作用においても、同様の結果が認められた。

著者はさきに *in vitro* および *in vivo* の実験において、白癬菌にたいする TETD の抗菌作用を認め、この作用機序を知る一助として、本実験を行つたのであるが、その結果は前述のように推計学的に有意の差を認めなかつた。しかし TETD 添加により促進効果を示した例はほとんどなく、また生理食塩水対照と TETD-PEG 実験とにおいてみられたごとく、ほとんど有意に近い差を示している点からみると、より多くの実験例を重ねれば、少くとも猩紅色菌においては阻害効果を確かめえたであらうと考える。さらに菌ホモジネート^⑤においては阻害効果を全く認めなかつたが、これは菌をホモジネートすることによつて呼吸能を失うことが考えられる。以上のように種々の問題は残されているが、いずれにせよ TETD が菌の呼吸代謝にあるていどの阻止効果をおよぼすらしいことは観察され、これが TETD の *in vitro* および *in vivo* の抗菌作用に関係があるろうことも想像しうることである。

すでに赤羽・河村^①らは、マウスの臓器組織呼吸に及ぼす作用について、TETD-Propylene glycol の、肝・腎・大脳および心室筋の各臓器 O_2 消費量は、30~90^mにて全例に著明な減少を認めている。また松岡・伊古美^⑥らは TETD および関係化合物が Xanthine

oxidase には阻害的に働くこと、また Catalase にたいしては明かな阻害作用を認めることができなかったことを報告している。

総 括

病原性白癬菌のうち猩紅色菌および *T. fubrus* の液体培養菌苔の切片を用いて、その組織呼吸能を測定し、TETD のこれらにおよぼす阻害効果を観察した。

1) TETD の添加 ($1:10^{-4}$ ~ $1:10^{-5}$) は猩紅色菌の組織呼吸を阻害するごとくであるが、著しいものではない(減少率19%)。 *T. fubrus* においてはごく僅かである。

2) TETD の組織呼吸阻害効果は反応を開始後 1^h ごろ大となつた。

参 考 文 献

- ①丹羽源之助; 信州医誌, 9:45, 1960 ②丹羽源之助; 信州医誌: 9:58, 1960 ③丹羽源之助; 信州医誌, 9:65, 1960 ④赤羽治郎・河村敏郎; 日薬理誌, 49: §149, 1953 ⑤松岡義忠・伊古美文雄; 日薬理誌, 55: §123, 1959 ⑥ワールブルグ検圧計, 化学の領域, 13: 85, 南江堂, 昭和29年2月 ⑦続ワールブルグ検圧計, 化学の領域, 20:74, 南江堂, 昭和30年12月 ⑧野村真康; ワールブルグ検圧計, 化学の領域, 13:172, 南江堂, 昭和29年2月