Trichomonas vaginalis の呼吸系に及ぼす 各種抗生物質の影響について

On the Effect of Various Antibiotics upon Respiratory System of *Trichomonas vaginalis*

群馬大学医学部衛生学教室 (主任 沢田利貞教授)

沢 田 利 貞・山 本 孝・小 林 暉 佳
木 下 東 洋・米 山 克 彦・長 岩 敏 郎

Toshisada Sawada, Takashi Yamamoto, Teruyoshi Kobayashi
Toyô Kinoshita, Katsuhiko Yoneyama, Toshirô Nagaiwa
Department of Hygiene, School of Medicine, Gunma University
(Director: Prof. T. Sawada)

緒 言

Trichomycin および Tetracyclin 系の一連の抗生物質の発見以来、臨床的には従来きわめて難治の疾患とされていた *Trichomonas vaginalis* (*Tv*) による膣炎に対して、これらの抗生物質を使用することによつて、ある程度の治療効果が得られているが、未だ *Tv* による膣炎の発症機転およびその再感染については不明の点が少ない。

すでに馬場、永田、岡らは、*Tv* の解糖系に及ぼす Cortisone の影響を、*Tv* の呼吸面より詳しく観察したが、今回われわれは *Tv* による膣炎に有効といわれる Trichomycin および Tetracyclin 系の Achromycin, Aureomycin, Terramycin などの抗生物質が示す抗 *Tv* 作用を解明するために、ワールブルグ検圧計を使用して、これら抗生物質の *Tv* 呼吸の阻害度を調べ、同時に殺虫検査を併せ実験したので、その成績を報告する。

実験材料および実験方法

1. 呼吸測定法

馬場らによる報告と同様に、実験に使用せる *Tv* は、その培養に「浅見の培地」を使用し、*Tv* 虫体を植え継ぎ孵卵器中に 37°C、24 時間入れて、増殖が最大に達したと思われる *Tv* を遠心分離 (3,000 回転/分、30 分) して集め、さらに *Tv* 虫体を 0.2 M の食塩水にて 2、3 回洗滌し、その都度、遠心分離 (3,000 回転/分、30 分) して得

た虫体を、0.05 M Krebs-Ringer-phosphate buffer (K. R.P.) に懸濁した。なお K.R.P. の pH は 6.0 で *Tv* が最高の酸素吸収量を示したので、本実験にはすべて pH 6.0 とした。ワールブルグ検圧計の容器内は、主室に *Tv* の K.R.P. 懸濁液 1.0 ml (100 万隻)、側室に Trichomycin, Aureomycin, Achromycin, Terramycin を各々生理的食塩水にて 10 倍、100 倍、500 倍、1,000 倍、1,500 倍に稀釈して、その 0.3 ml を入れる。これら抗生物質の混合終末稀釈濃度がそれぞれ 1%, 0.1%, 0.02%, 0.01%, 0.006% となるように、K.R.P. を主室に入れ、副室には 20% KOH を 0.3 ml 入れ、恒温槽は 37.5°C に保ち、1 分間 95 回転とした。なお側室の各種抗生物質は予備振盪 10 分後に添加して、その影響を調べた。

2. 殺虫検査法

A. Slide 法

浜田の方法により実験をおこなつた。すなわち呼吸測定の場合と同様に、24 時間培養した *Tv* を使用し、培養液 1.0 ml 中の *Tv* 数を算え、その 0.5 ml にそれぞれ各種抗生物質が終末稀釈濃度 1%, 0.1%, 0.02%, 0.01%, 0.006% となるように生理的食塩水で稀釈して加え、小試験管内で混合し、混合液の少量をピペットでスライドグラス上に滴下し、顕微鏡下で *Tv* がまったく運動を停止するに至るまでの時間を測定した。

B. 試験管法

Slide 法の場合と同様に、24 時間培養の *Tv* を使用し

Tab. I. Effect of Trichomycin

Final concentration of trichomycin (%)	Number of trophozoite ($\times 10^6$)	Oxygen uptake* (%)		Inhibitory rate** (%)		Movement after the measurement
		60 (min.)	120	60	120	
1	16	45	55	-55	-45	—
0.1	16	20	26	-80	-74	—
0.02	16	40	41	-60	-51	—
0.01	16	48	45	-52	-55	—
0.006	16	27	39	-73	-61	—

* The relative value, calculated as 100 % of the control oxygen uptake.

** — is showing inhibitory.

培養液 0.5 ml に、終末稀釈濃度がそれぞれ 1 %, 0.1 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.006 % となるごとく各種抗生物質を生理的食塩水で稀釈して加え、この混合液を、新しい「浅見の培地」に入れ、孵卵器内にて、37°C, 24時間培養をおこない、Tv の運動の有無を鏡観察した。

実験結果

1. 呼吸阻害作用

1) Trichomycin

Trichomycin の 1 %, 0.1 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.006

Tab. II. Effect of Aureomycin

Final concentration of aureomycin (%)	Number of trophozoite ($\times 10^6$)	Oxygen uptake* (%)		Inhibitory rate** (%)		Movement after the measurement
		60 (min.)	120	60	120	
1	16	28	25	-72	-75	—
0.1	16	67	55	-33	-45	+
0.02	16	65	58	-35	-42	+
0.01	16	86	73	-14	-27	+
0.006	16	51	68	-49	-32	+

* The relative value, calculated as 100 % of the control oxygen uptake.

** — is showing inhibitory.

%稀釈液をそれぞれ Tv に添加作用せしめたところ、いずれも著明な呼吸阻害作用を示すことを認めた。しかし、その阻害の程度は薬剤濃度と必ずしも平行していない。すなわち予備振盪 10 分後 Trichomycin を投与するに、Tv の酸素吸収率は各濃度とも、作用後 60 分値と 120 分値に大差なく、60 分値では対照を 100 % とすると、最低が 0.1 % 稀釈液の 20 %, ついて 0.006 %, 0.02 %, 1 % 稀釈液の順であり、最高は 0.01 % 稀釈液の 48 % であつた。

測定後の Tv については、1 % 稀釈液では破壊された

Tab. III. Effect of Achromycin

Final concentration of achromycin (%)	Number of trophozoite ($\times 10^6$)	Oxygen uptake* (%)		Inhibitory rate** (%)		Movement after the measurement
		60 (min.)	120	60	120	
1	18	25	33	—75	—67	—
0.1	18	43	43	—57	—57	—
0.02	18	95	98	—5	—2	+
0.01	18	86	94	—14	—6	+
0.006	18	55	66	—45	—34	+

* The relative value, calculated as 100 % of the control oxygen uptake.

** — is showing inhibitory.

虫体を認め、他稀釈液では虫体の運動は停止して、円形に近く変形し、正常の培養後の虫体に比較して明らかに区別された。また1%稀釈液添加後、*Tv*の酸素吸収量を4時間測定したところ、破壊した虫体が多いにも拘らず、かなりの酸素吸収量を示した。運動停止せる *Tv*を洗滌分離して前述の「浅見の培地」に植え継いだが、虫体の増殖を認めえなかつた。これは0.1%, 0.02%, 0.01%, 0.006%稀釈液においても同様の結果であつた (Tab. I)

2) Aureomycin

Tab. IV. Effect of Terramycin

Final concentration of terramycin (%)	Number of trophozoite ($\times 10^6$)	Oxygen uptake* (%)		Inhibitory rate** (%)		Movement after the measurement
		60 (min.)	120	60	120	
1	13	42	57	—58	—43	—
0.1	13	61	90	—39	—10	+
0.02	13	74	110	—26	+10	+
0.01	13	103	132	+3	+32	+
0.006	13	93	135	—7	+35	+

* The relative value, calculated as 100 % of the control oxygen uptake.

** — is showing inhibitory.

Aureomycin の1%, 0.1%, 0.02%, 0.01%, 0.006%稀釈液の *Tv* 呼吸阻害度については、大体各濃度差に応じた酸素吸収%を示した。すなわち120分値では最低は1%稀釈液で25%、ついて0.1%, 0.02%, 0.006%, 0.01%の順で最高は0.01%稀釈液で73%であつた。60分値は120分値に比し各稀釈液とも、酸素吸収%が高値であり、時間経過により呼吸阻害度が強くなることがわかつた。また0.006%稀釈液の酸素吸収%は60分値では他の稀釈液より低く、120分値では0.01%稀釈液よりは低

いが、他の稀釈液よりは高かった。このことは、この間の一定度以上の稀釈では *Tv* 呼吸阻害度が、時間経過とともに不安定であることを考えさせる。また 1 % 稀釈液では、測定後 *Tv* 虫体の運動は停止していたが、他の稀釈液では虫体の運動が保たれていた (Tab. II)。

3) Achromycin

Achromycin の 1 %, 0.1 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.006 % 稀釈液を *Tv* に添加作用せしめたが各濃度に応じた呼吸阻害度を示さなかつた。すなわち 60 分値と 120 分値は相似的で、60 分値では、最低の 1 % 稀釈液で 25 %, 他は 0.1 %, 0.006 %, 0.01 %, 0.02 % 稀釈液の順で最高の 0.02 % 稀釈液の酸素吸収率は 95 % であつた。1 %, 0.1 % および 0.006 % 稀釈液に比し、0.02 %, 0.01 % 稀釈液で高い酸素吸収率を示すのは、この間の一定濃度における *Tv* 酸素吸収の回復が考えられた。

Achromycin 1 % 稀釈液では、*Tv* 虫体が破壊されており、また 1 %, 0.1 % 稀釈液ではいずれも虫体の運動は停止していた (Tab. III)。

4) Terramycin

Terramycin の 1 %, 0.1 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.006 % 各稀釈液を *Tv* に添加作用せしめたところ、各濃度に応じた *Tv* 呼吸阻害度を示した。すなわち 120 分値では酸素吸収率が、1 % 稀釈液で最低の 57 % を示し、他は 0.1 %, 0.02 %, 0.01 %, 0.006 % 稀釈液の順に高くなり、最高は 0.006 % 稀釈液の 135 % であつた。60 分値においても、0.01 % 稀釈液を除き、同様の傾向を認めた。よつ

て Terramycin においては 0.02 % 稀釈液以下の濃度のものでは逆に *Tv* 酸素吸収の著しい促進が考えられた。

測定後の *Tv* 虫体運動については、1 % 稀釈液では虫体の運動は停止しており、他の稀釈液ではいずれも虫体運動は活潑であつた (Tab. IV)。

2. 殺虫検査成績

1) Slide 法

観察時間は正確に 20 分としたが、浜田の報告による場合と同様に虫体運動停止に要する時間が 5 分以上にわたる場合は、その誤差が大きくなるので、5 分以上 *Tv* が運動している場合にはすべて変化なしとし、記号 + とした。結果は大体呼吸阻害作用における場合と同様の傾向を認め、5 分以内に虫体の運動が停止したのは、Trichomycin 1 % 稀釈液および 0.1 % 稀釈液、Aureomycin 1 % 稀釈液であつた。

Trichomycin 0.02 % 稀釈液および Achromycin 1 % 稀釈液では、5 分以上にわたつて少量の虫体が運動しているのを認めたので、記号を ± とした (Tab. V)。

2) 試験管法

呼吸阻害作用の顕著に認められた Trichomycin, Aureomycin については、いずれも *Tv* 虫体の増殖がまったく認められず、酸素吸収量測定後に虫体を分離培養した場合と同一の成績であつた。

虫体の培養後に増殖をみたものは、Achromycin と Terramycin の各々 0.01 % および 0.006 % 稀釈液であつた。Terramycin の場合は虫体の運動がきわめて活潑で、か

Tab. V. Results by slide method

1. Trichomycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Time*	3'41''2	4'58''1	±	+	+	+
2. Aureomycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Time*	4'32''8	+	+	+	+	+
3. Achromycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Time*	±	+	+	+	+	+
4. Terramycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Time*	+	+	+	+	+	+

Tab. VI. Results by tube method

1. Trichomycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Result	—	—	—	—	—	+
2. Aureomycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Result	—	—	—	—	—	+
3. Achromycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Result	—	—	—	+	+	+
4. Terramycin						
Concentration (%)	1	0.1	0.02	0.01	0.006	0.2 M. Saline
Result	—	—	—	+	+	+

つ変形などを認めず、これは酸素吸収量測定時に認めた促進作用と一致する所見であった。

Achromycin 0.006%稀釈液では、虫体は増殖とともに著しく変形し、正常型と嚢子型の中間型のごとく、真中がくびれて運動は活潑であった。対照として生理的食塩水を使用したか、虫体の増殖はきわめて活潑であった (Tab. VI)。

総括ならびに結語

Tv に対する抗生物質による治療成績の報告のうち、細谷らは、放線状菌の産生する抗生物質 Trichomycin に抗 *Tv* 作用があるといい、Greenblatt, R. B. および Mcvay, L. V. らは、*Tv* による急性肺炎の 53 例の患者に対して、Aureomycin を投与し、その良結果を報告し、篠塚は、*Tv* による肺炎患者に Achromycin および Aureomycin の坐薬、粉末などを投与して 133 例中 45.6% の再発病をみたが、約 1 カ月間の観察により 51.4% の治癒を得ている。Terramycin については、抗 *Tv* 作用の有無について明らかでないが、Tetracyclin 系の一連の抗生物質の一つとして、抗 *Tv* 作用があるものと想像される。

上記 4 種抗生物質についての *Tv* 呼吸阻害作用および *Tv* 殺虫作用の実験結果は次のように要約される。

1) 4 種抗生物質 Trichomycin, Aureomycin, Achromycin, Terramycin の *Tv* 呼吸阻害作用は、Trichomycin がもつとも強く、以下 Aureomycin, Achromycin,

Terramycin の順と考えられる。

2) 作用時間による *Tv* 呼吸阻害度については、Trichomycin は 60 分値、120 分値に大差なく、Aureomycin は 120 分値が 60 分値に比し強い傾向を示し、Achromycin, Terramycin では、120 分値は 60 分値より弱い傾向が認められた。

3) 呼吸阻害作用は Trichomycin がもつとも強く、全稀釈液で *Tv* 呼吸阻害作用が大なるを認め (0.006% 稀釈液を除く)、また虫体の運動が停止することを認めた。Aureomycin および Achromycin もそれぞれある程度の呼吸阻害作用を示した。

一方 Terramycin では 0.02%, 0.01%, 0.006% 稀釈液の場合に、対照に比し逆に *Tv* 呼吸促進作用が認められ、殺虫検査でも *Tv* 虫体の増殖を認めた。

4) 殺虫検査の試験管法においては虫体の増殖を認めず、また Slide 法で 5 分以内に虫体の運動停止を認めた各種抗生物質の各稀釈液では、いずれも *Tv* 呼吸阻害作用が著明に認められ、呼吸阻害度と殺虫検査とは、ほぼ一致することがわかった。

文 献

- 1) Baba, T., Nagata, K. and Nakajima, T.: *Gunnma J. Med. Sci.*, 6(1), 22~30, 1957.
- 2) Hamada, Y.: *大阪医学雑誌*, 5(5), 437~447, 1953.
- 3) 細谷吾吾, 小松信彦, 添田百枝, 山口辰良, 園田洋子: *J. Antibiotics*, 5(10), 564~566, 1952.
- 4) Ninomiya, H. and Suzuoki, J.: *J. Biochem.*, 38,

- (3), 237~253, 1951.
- 5) Ninomiya, H. and Suzuki, J. : J. Biochem., 39 (4), 321~331, 1952.
- 6) Mcvay, L. V., Laid, R. L., Flangen, J. B. and Sprunt, D. H. : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 70, 674~675, 1949.
- 7) Creenblatt, R., Barfield, W. E. and Augsts, G. A. : Am. J. Obst. and Gynec., 62, 423~426, 1951.

(受付 : 1959 年 8 月 14 日, 特別掲載)