UDC 577.153.025:576.851.48.095.3

189. 岩本多喜男, 飯田広夫: 細菌代謝産物のコリンエステラーゼ活性に及ぼす影響 (第4報*)
培地に Trimethylamine N-Oxide 添加の場合

Takio Iwamoto and Hiroo Iida: Effects of Microbial Metabolites on the Activity of Cholinesterase. IV. Experiments with Trimethylamine Oxide Addition in Medium.

(Hokkaido Institute of Public Health**)

Following previous experiments on the cholinesterase inhibition by trimethylamine, action of various bacteria to the addition of trimethylamine N-oxide in the medium was examined. Trimethylamine N-oxide was added to bouillon medium in a ratio of 500 mg% and various bacteria were cultured in such medium for 48 hours at 37°. The most powerful reducibility was exhibited by *Escherichia coli*, followed by *Arizona*, *Ballerup*, and *Alkalescens*. The inhibition of cholinesterase activity, when trimethylamine N-oxide was added to the medium, was greater with bacteria having strong power to reduce trimethylamine N-oxide, smaller in bacteria with weaker reducibility. When trimethylamine N-oxide was not added to the medium, inhibition of cholinesterase activity was independent of the reducibility of the bacteria and determined by the bacterial species. Relationship between the amount of trimethylamine N-oxide added, the amount of trimethylamine produced, and degree of inhibition of cholinesterase activity was examined with *Escherichia coli*.

(Received April 12, 1957)

著者等は本研究の第1報～第3報¹⁾において、各種細菌代謝産物の cholinesterase (以下 ChE と略記) 阻害作用をしらべ、イカを培地とした場合の培養液が ChE 阻害作用の大きいのは、イカの成分である trimethylamine N-oxide が細菌 (酵素) によつて還元されて生成した trimethylamine が主な原因となつてゐることを推定した。

今回は組成既知の培地に trimethylamine N-oxide を添加した場合に、各種細菌がこれを還元して trimethylamine にする能力に差があるか否かを比較し、また還元能力の時間的経過を trimethylamine 体 N の定量及び ChE 阻害度測定によりしらべ、同時に trimethylamine N-oxide の添加量による還元能力の差をもしらべた。

実験方法 (1) ブイヨン (組成は第1報に示す通り) に trimethylamine N-oxide を 500 mg % の割合に加えた培地をつくり、これに各種細菌を 2～5 株ずつ接種し 37°, 48 時間培養してその培養液について trimethylamine 体 N を定量し、また ChE 阻害度を trimethylamine N-oxide 無添加の場合と比較して測定した。これらの測定方法は既報の通りである。

(2) ブイヨン及び合成培地 (第1報に示す通りの組成) に、trimethylamine N-oxide を 0, 10, 50, 100, 500, 1000 mg% の割合に加えて、*Escherichia coli* を 24, 48 時間 37° で培養し、その培養液について濁度、pH、trimethylamine 体 N、ChE 阻害度を測定した。測定方法は既報の通りである。

実験結果 (1) の場合の結果は Fig. 1 に示す通りである。この図に示した発生 trimethylamine 体 N の量は、同一種の菌でも株によつて少しずつ差があるので最大のものを示した。これによつてみると trimethylamine N-oxide 還元能の最大なものは *E. coli* であり、*Arizona*, *Ballerup*, *Alkalescens* がこれにつづき、ついで *S. typhi* H, *Bethesda* の順であつた。

また ChE 阻害度を trimethylamine N-oxide 無添加のものと比較してみるとその差の大きいものは還元能の大きいものであり還元能の小さいものはその差は小さかつた。

(2) の場合の結果は Table I, II に示す通りである

まず培地の間の差は、24, 48 時間とも同様であるがブイヨンの方が合成培地にくらべていずれも trimethyl-

* 一部は第6回日本薬学会年会 (1956) 及び日本細菌学会 (1956) で発表。第3報: 本誌 76, 783(1956)。

** Kita-3-jo, Nishi-6-chome, Sapporo, Hokkaido.

1) 本誌 76, 778, 781, 783(1956)。

Fig. 1. Activity of various Microbes in Reduction of Trimethylamine N-Oxide and their ChE Inhibition (Broth + trimethylamine N-Oxide 5 mg./cc. 37°, 48 hrs. cultured)

Table I. Experiments with Addition of Trimethylamine N-Oxide to the Medium *Escherichia coli*, 37°, 24 hrs.

Medium	Turbidity	pH	N(%) in Me ₃ N (mg%)	ChE-inhibition (%)
Broth + Me ₃ N→O				
1000 (mg%)	0.590	6.8	39.0	21.9
500	0.640	"	38.0	21.1
100	0.600	"	11.0	12.5
50	0.620	"	4.0	10.2
10	0.465	"	0.3	7.8
0	0.450	7.0	0	"
Synthetic + Me ₃ N→O				
1000 (mg%)	0.420	6.0	23.0	12.9
500	0.408	"	26.0	11.5
100	0.335	5.4	10.0	6.5
50	0.380	—	—	8.1
10	0.341	5.2	3.0	"
0	0.312	"	—	—

Table II. Experiments with Addition of Trimethylamine N-Oxide to the Medium *Escherichia coli*, 37°, 48 hrs.

Medium	Turbidity	pH	N(%) in Me ₃ N (mg%)	ChE-inhibition (%)
Broth + Me ₃ N→O				
1000 (mg%)	0.660	7.0	34.0	24.4
500	0.620	"	37.0	25.2
100	0.570	"	22.0	13.8
50	0.620	"	6.0	9.8
10	0.730	"	0.8	10.2
0	0.740	"	—	11.4
Synthetic + Me ₃ N→O				
1000 (mg%)	0.540	7.0	50.0	18.8
500	0.600	"	45.0	19.0
100	0.540	5.2	8.0	14.5
50	0.480	"	4.0	9.5
10	0.380	"	0.8	"
0	0.378	"	—	5.8

amine 体 N 量及び ChE 阻害度が大きくなっている。また 48 時間の方が 24 時間に比べていずれも高く、イカ培地や普通培地の場合と同様の傾向を示している。

trimethylamine N-oxide 添加量による差は、24 時間の場合はブイヨン培地ではほぼ添加量の増加と共に増大を示すが、合成培地の場合は添加量 100~500 mg%の時にのみ同様の傾向を示し他の範囲ではバラツキがある。48 時間の場合は何れの培地でも 50~500 mg%添加の場合にはほぼ同様の傾向を示している。

以上の結果から、trimethylamine N-oxide 添加培地では各種細菌はこれを還元して trimethylamine にする能力を有し、時間的には 48 時間で最大を示し、この還元能 ChE の大きいものは ChE 阻害度も大きいことが認められた。

考察及び結論 魚類の筋肉中には trimethylamine oxidase が存在することは既知の事実であり²⁾、また赤痢菌の一部には trimethylamine N-oxide reductase がありこれがこの菌の分類に利用されている。この trimethylamine N-oxide reductase については Tomizawa の報告³⁾があり、また菌の性質については Wood⁴⁾、Fukumi⁵⁾などの報告がみられる。

trimethylamine N-oxide reductase についての基礎的研究を行うとすれば当然休止菌について実験を行わねばならないが、今回著者等の行った実験は、食中毒の機構を解明する一過程として、摂取された食品が腸内で細菌によつて如何なる代謝分解をうけるかを知るための予備の実験であるので、休止菌による還元能力については今後の実験にまかたいと考える。またこの reductase は adaptive に生成されるので、腸内などにおける態度は極めて複雑な条件により支配されると考えられ、今回の *in vitro* の実験ではその全体をうかがうことは不可能と思われる。

然し *Escherichia coli*, *Balleruppi*, *Arizona*, *Alkalescens* などが trimethylamine N-oxide を還元する能力があることは以上の実験から認められ、この還元能の大きいものは trimethylamine を生成して ChE 阻害作用を示すことは推定できる。還元能のないと思われる菌の代謝産物が ChE 阻害作用を示すことは、ChE 阻害作用が単に trimethylamine にのみよつて起るのではないことを示し、ブイヨン培地では別の阻害物質が産生されていることを推測せしめるのである。これらについては今後更に検討したいと考える。

この研究にあたり御指導御鞭撻を頂いた中村 豊所長に深謝の意を表し、実験に協力された熊谷 満、唐島田 隆、多賀光彦の諸氏に感謝する。

北海道立衛生研究所

2) E. Baldwin: 邦訳 “動的生化学” (岩波書店) 141(1954).

3) J. Tomizawa: Japan Med. J. 4, 21(1951).

4) A. J. Wood, E. A. Baird: J. Fisheries Research Board Can. 6, 194(1943).

5) Fukumi, Nakaya: Japan Med. J. 3, 349(1950).