

## 数種薬剤の *Trichomonas vaginalis* の メチレン青脱色能に及ぼす影響

岩 井 澄 雄

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 (主任 松林久吉教授)

(昭和 34 年 2 月 16 日受領)

### 緒 言

近時 *Trichomonas vaginalis* (以下 TV と略す) の純培養が容易に行はれる様になりその代謝機構は漸次解明されつつある。

糖質代謝に関しては Trussell & Johnson (1941) の報告以来、葡萄糖、グリコーゲン等が TV の増殖に重要な事が分り、浅見 (1956) は Thunberg のメチレン青脱色反応法により、塚原 (1957) は Warburg の検圧法によつて TV の糖類酸化に TCA cycle が関与する事を示唆した。TV にメチレン青脱色能のある事は松元 (1955) も報告している。

著者 (1957) は TV の薬剤耐性を検討した時に使用したカルバミジン、塩酸エメチン、アクロマイシ、トリコマイシンは何れも試験管内において TV の増殖抑制作用を有する事を認めたので、本実験においては之等 4 剤及び酵素毒たるモノ沃度醋酸、マロン酸の 2 剤の TV のメチレン青脱色能に及ぼす影響を検討してその作用機序の一端を明らかにせんとした。

### 実験材料及び方法

本実験は浅見 (1957) の報告に基いて Thunberg 管によるメチレン青脱色反応法により各種薬剤の TV の脱水素酵素作用の阻害の有無を見たものである。

供試 TV はチスティンブイオン血清培地で 200 代以上継代した B 株である。

被検薬剤はカルバミジン末 (三共)、塩酸エメチン注射液 (40mg/cc 武田)、アクロマイシ末 (Lot. No. 4761-103 日本レダリー)、トリコマイシ末 (L 912, 3050 u/mg 藤沢) の他、脱水素阻害剤たるマロン酸、モノ沃

度醋酸の 6 種である。

メチレン青は M/4,000 の保存溶液を作り実験の都度 Krebs-Ringer 磷酸緩衝液 (pH 6.0) で M/40,000 に稀釈して使用した。

Thunberg 管の主室には各薬剤の所要量を添加した Krebs-Ringer 磷酸緩衝液 2.0cc と M/40,000 メチレン青溶液 2.0cc を入れ側室には 24 時間培養虫体を滅菌 Ringer 氏液で 3 回遠沈洗滌し、per cc 600×10<sup>4</sup> の虫体を含む様に調製した TV 懸濁液 1.0cc を入れた。

セットした Thunberg 管は真空ポンプで 5 分間排気して完全に真空にした後、37°C の恒温槽に 10 分間入れて温度を平衡させ、手早く内容を主室に混和し、直後、15 分、30 分、60 分後に光電比色計で色素濃度を盲管と比較して測定し、最後に各管に一刀尖の Sod. hydrosulfite を添加した時の読みを 100% 脱色の Extinction とした。

### 成 績

カルバミジン：第 1 及び 2 表の如く 0.5mg/cc 以上では脱水素酵素作用は完全に阻害され、0.1mg/cc では僅かに阻害され、0.05mg/cc 以下では影響が無かつた。

第 1 表 カルバミジンによる影響 I

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1.0mg	0.35	0.35	0.35	0.35
0.1mg	0.35	0.32	0.27	0.07
0.01mg	0.38	0.33	0.26	0.02
control	0.37	0.33	0.26	0.02

塩酸エメチン：第 3 及び第 4 表の如く 1,000 γ/cc の高濃度においても阻害の傾向は認められなかつた。

トリコマイシ：第 5 及び第 6 表の如く 0.001 γ/cc から 100 γ/cc 迄の間で阻害傾向は認められず、むしろ濃度が高くなるにつれて脱色反応は促進した。

SUMIO IWAI: Effects of several kinds of remedies upon the methylene blue decolorization activity in *Trichomonas vaginalis* (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University)

第2表 カルバミジンによる影響 II

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
0.5mg	0.38	0.38	0.38	0.38
0.05mg	0.38	0.33	0.27	0.08
control	0.38	0.33	0.27	0.09

第3表 塩酸エメチンによる影響 I

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1,000γ	0.42	0.36	0.20	0.01
50γ	0.41	0.38	0.23	0.02
25γ	0.40	0.36	0.20	0.01
control	0.41	0.36	0.20	0.01

第4表 塩酸エメチンによる影響 II

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
25γ	0.40	0.35	0.24	0.04
2.5γ	0.40	0.36	0.25	0.04
0.25γ	0.40	0.35	0.24	0.05
control	0.40	0.35	0.25	0.03

第5表 トリコマイシンによる影響 I

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
100γ	0.26	0.02	0	0
10γ	0.41	0.22	0.02	0
1.0γ	0.41	0.36	0.21	0
control	0.41	0.37	0.28	0.08

第6表 トリコマイシンによる影響 II

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
0.1γ	0.39	0.32	0.23	0.06
0.01γ	0.39	0.34	0.24	0.06
0.001γ	0.39	0.32	0.23	0.05
control	0.38	0.32	0.22	0.05

アクロマイシン：原株及び 0.5mg/cc 耐性株において同条件下で阻害の割合を比較した。

原株においては第7表の如く 1 mg/cc で完全に阻害さ

れ濃度が低くなるにつれて阻害度も小となり 0.125 mg/cc でも尚お多少阻害傾向を示している。

耐性株の成績は第8表の通りである。この場合耐性株とは云へ 0.5 mg/cc 濃度の培地内の増殖は弱く 600×10<sup>4</sup> の虫体を集める事は困難であつたため、先の耐性実験の時に一度正常培地に戻しても耐性は数代維持されたのを認めたのでここでも一度 0.125mg/cc 濃度の培地において増殖させた虫体を集めて実験に使用したが表の如く第7表と比較して阻害度において差が認められなかつた。

第7表 アクロマイシンによる影響(原株)

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1.0mg	0.40	0.40	0.40	0.40
0.5mg	0.38	0.37	0.35	0.33
0.25mg	0.38	0.36	0.33	0.18
0.125mg	0.39	0.36	0.32	0.15
control	0.38	0.35	0.30	0.10

第8表 アクロマイシンによる影響(0.5mg 耐性株)

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1.0mg	0.37	0.37	0.37	0.37
0.5mg	0.37	0.36	0.35	0.32
0.25mg	0.38	0.37	0.35	0.30
0.125mg	0.37	0.34	0.30	0.23
control	0.38	0.36	0.31	0.12

マロン酸：第9表の如く 100 γ/cc 以上で完全に阻害され10 γ/cc では阻害傾向は認められなかつた。

第9表 マロン酸による影響

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1,000γ	0.34	0.34	0.34	0.34
100γ	0.34	0.34	0.34	0.34
10γ	0.34	0.26	0.13	0.02
control	0.34	0.26	0.13	0.02

モノ沃度醋酸：第10表の如く 1,000 γ/cc で完全に阻害され 100 γ/cc 以下では阻害傾向は認められなかつた。

第 10 表 モノヨード醋酸による影響

濃度/cc	各時間に於ける Extinction			
	0'	15'	30'	60'
1,000γ	0.38	0.38	0.38	0.38
100γ	0.40	0.39	0.29	0.06
10γ	0.39	0.38	0.30	0.06
control	0.38	0.37	0.29	0.06

総括及び考按

本実験によりカルバミジンは TV の脱水素酵素系を阻害する事を認めたが、松元 (1955) は同剤が TV の好氣的糖消費を抑制し又抗生剤に比しては弱い TV の呼吸を抑制する事を認めている。二宮・鈴置 (1952) は TV の呼吸が SH 反応剤により抑制される事を報告している。高木・小沢 (1957) によれば同剤の作用機序は原虫の必須酵素の SH 基と As とが結合するために発現すると考へられている。平山 (1954) によれば TCA cycle に関する脱水素酵素に SH 基の存在する事が分つている。

以上の事実は本実験成績を裏付けるものとして興味ある事である。

塩酸エメチンの詳細な作用機序を論じた文献は見当たらないが本実験から見て少なくとも脱水素酵素系を阻害しない事は確かと思はれる。

又著者はトリコマイシンでは脱水素酵素系を阻害しない成績を得たが、松元 (1955) は TV の呼吸を阻害する事を認め、伊藤・塚原 (1956) は糖類酸化を阻害する事を認め、焦性ブドウ酸酸化が阻害される事から同剤の阻害機転として焦性ブドウ酸とオキサロ醋酸の縮合の抑制を考へているが他の TCA cycle 中のリンゴ酸-オキサロ醋酸の反応過程は阻害しなかつたと報告している。斯様な区々の成績が現はれている原因として、製品となつたトリコマイシンに附随している抗トリコモナス物質以外の物質の存在が考へられる。

アクロマイシンは脱水素酵素系を阻害する事を認めたが、本剤と化学構造の類似するオーレオマイシン、テラマイシンに就いては水野 (1955) によれば細菌において、蛋白合成の阻害、グルタミン酸ソーダの酸化の阻止、醋酸、C<sub>4</sub>チカルボン酸及び焦性ブドウ酸の代謝の阻害、リボフラビンの摂取の阻害などが報告されており直下 (1958) によればアクロマイシンにおいても同上種々の説があり作用本態は不明だが最近では 2 価の金属イオ

ン (Mg, Fe, Al 等) により抗菌力が阻害されると云う報告がある。

又同剤においては本実験では原株と耐性株との間に脱水素酵素系の阻害に差が認められなかつた事は浅見 (1957) の示唆している如く、TV においては TCA cycle がそれ程重要ではない事を思はせるものである。

マロン酸、モノ沃度醋酸は共に脱水素酵素系を阻害する事を認めたが前者においては塚原 (1957) が TV の酸素消費が著減する事を認めており又は又略々特異的にコハク酸脱水素酵素を阻害する事が知られている事からも考へられるものである。後者は SH 反応剤として知られており二宮・鈴置 (1952) は之が TV の酸素消費を著明に抑制する事を報告し、塚原 (1957) も同剤がグルコース酸化を阻害する事を報告している。

本実験は TV の脱水素酵素一般に就いて行つたものであり個々の脱水素酵素に就いては今後の検討を期待するものである。

結 論

Thunberg のメチレン青脱色反応法を用いてカルバミジン、塩酸エメチン、トリコマイシン、アクロマイシンマロン酸及びモノ沃度醋酸の TV のメチレン青脱色能に及ぼす影響を検討した。

- 1) カルバミジン、アクロマイシンは脱水素酵素系を阻害する事を認めた。
- 2) 塩酸エメチン、トリコマイシンは全く阻害を示さなかつた。
- 3) マロン酸、モノ沃度醋酸は強く阻害する事を認めた。
- 4) アクロマイシンは原株と耐性株とでは阻害において差が認められなかつた事から TCA cycle が TV にはそれ程重要な代謝路でない事が考へられる。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導を賜わり御校閲下さつた松林教授並びに浅見助教授に深く感謝致します。

文 献

1) Asami, K. (1956) : Physiological studies on *Trichomonas vaginalis*, Keio Journal of Medicine, 5(3), 169-190. —2) 平出順吉郎 (1954) : SH の進歩, 医学書院. —3) 伊藤泰一・塚原勲 (1956) : *Trichomonas vaginalis* の呼吸に及ぼす Trichomycin の影響, J. Antibiot. Ser. B., IX (7), 325-329. —4) 岩井澄雄 (1957) : *Trichomonas vaginalis* の二, 三薬剤に対

する耐性増強について、第17回日本寄生虫学会東日本支部大会に於て発表。—5) 真下啓明(1957) : アクロマイシン及びアクロマイシンVについて, *Achromycin Therapy*, 1-13, 日本レダリー株式会社。—6) 松元重達(1955) : 膾トリコモナスに関する実験的並びに臨床的研究, 鹿大医誌, 7(2), 50-88。—7) 水野伝一(1955) : 細菌の生理 I. 共立出版株式会社。—8) Ninomiya, H. & Suzuoki, Z. (1952) : The metabolism of *Trichomonas vaginalis*, with comparative aspects of trichomonads, *J. Biochem.*, 39(4), 321-331。—9) 高木敬次郎・小沢光(1957) : 薬物学, 南山堂。—10) 塚原勲(1957) : *Trichomonas vaginalis*の呼吸に就いて, 新潟医誌, 71(5), 418-425。

### Summary

The author investigated the inhibitory effect of several kinds of remedies and chemical compounds upon the methylene blue decolorization activity of *Trichomonas vaginalis*. Methylene blue decolorization activity was evaluated by modified Thunberg's method. The composition of the reaction system was as follows: two ml of Krebs-Ringer phosphatate buffer containing adequate concentration of the drugs

tested as well as two ml of M/40,000 methylene blue in the tube, and  $600 \times 10^4$  of washed bacteria-free *T. vaginalis* in the side arm. Reading of decolorization was made in every 15 minutes using electric photometer.

Carbarsone inhibited the decolorization activity of the organism almost completely in concentration of more than 0.5 mg/ml, and no inhibitory effect was recognized in 0.05 mg/ml. Emetine hydrochloride showed no inhibitory effect even in concentration of as much as 1,000 $\gamma$ /ml. Trichomycin also did not show inhibitory effect in concentration of 0.001 $\gamma$ /ml to 100 $\gamma$ /ml, and on the contrary slight acceleration was recognized in higher concentrations. In the case of tetracycline inhibitory activity was compared with that of the strain which acquired a resistance to tetracycline in concentration of 0.5 mg/ml, there was no difference between both strains, showing complete inhibition in 1.0 mg/ml. Malonate and monoiodoacetate completely inhibited the decolorization in concentration of 100 $\gamma$ /ml and 1,000 $\gamma$ /ml respectively.