

Empecid の抗真菌作用に関する 走査電顕的観察

佐藤喜一・伊藤博
畑中美枝子・山下公一*

近時感染症に対する治療として、各種の抗生物質や副腎皮質ホルモンを安易に、かつ多量に使用する傾向が普遍化し、いわゆる慢性炎症の病態像に変遷がみられるようになり、しばしば真菌症の感染が証明される機会が多くなつてきている。このような場合、すでに知られている幾つかの抗真菌剤を使用しているが、これらの抗真菌剤の中でも Empecid は、他科領域で評価されている薬剤の一つである。

Empecid の抗真菌作用に関しては BARTMANN ら (1976)¹⁾ がすでに報告しているが、いわゆる抗真菌作用 antifungal action を形態学的に観察することは興味深いことである。このような目的で今回 *Candida albicans* に対する Empecid の抗真菌作用を明らかにするために *in vitro* で実験を行い、走査型電顕を用い Empecid によつて変化をきたす *Candida albicans* の変性像を観察したので報告する。

実験材料および方法

慢性中耳炎の耳漏から得られた真菌のうち can-

dida GS 培地 (栄研) で分離培養した *Candida albicans* の集落を観察対象とした。すなわち培地上のクリーム状の *candida* 集落に小濾紙片をのせ、Empecid 液剤 (clotrimazole を 1.0% に polyethylene glycol で溶解した液) を滴下し、滴下後 1 日目から経時的に 5 日目までの集落を観察した (図 1 B)。なお対照としての観察材料としては Empecid 滴下を行っていない集落を用いた (図 1 A)。

走査型電顕標本の作成に当たっては、集落培地に円筒状のプラスチック管 (径 7 mm) を直立させ、この中に 2.5% グルタルアルデヒド、リン酸緩衝液 (pH 7.2) を満たし、4℃ に保ちながら 2 時間固定した (図 1 A)。そのあと、培地とともに一塊として取り出し、リン酸緩衝液 (pH 7.2) で洗つてから、1.0% オスミウム、リン酸緩衝液 (pH 7.2) で 1 時間固定し、その後アルコール上昇法で脱水し最後に液化炭酸ガスを用いて臨界点法で乾燥させた。乾燥後、導電性塗料で試料台にのせ、カーボンおよび金を真空蒸着し JSM-35 型走査型電子顕微鏡を用い 1000 倍から

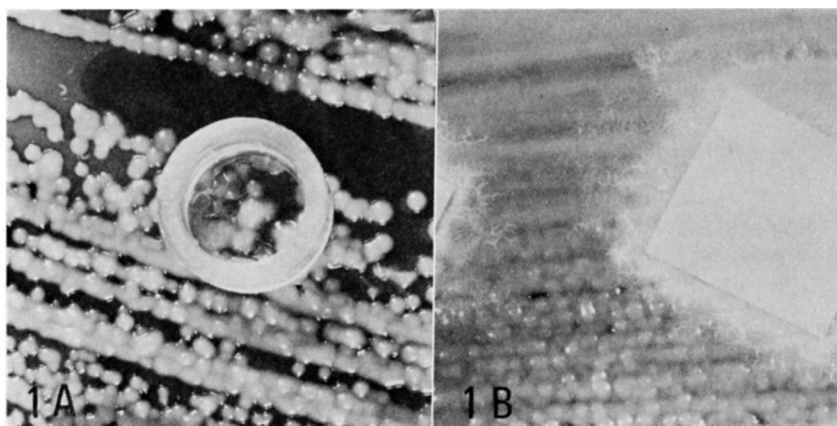


図 1 *candida* GS 培地上の集落。1 A は無処置の対照群で、プラスチック管が直立している。1 B は Empecid を小濾紙片へ滴下したもので、濾紙片の周囲は白濁している。

* 金沢医科大学医学部耳鼻咽喉科学教室

16000 倍で *candida* 集落を観察した。

観 察 結 果

1) *Candida albicans* 集落の性状

対照とした *Candida albicans* の集落は、*candida* GS 培地の上ではクリーム状に点状および塊状の集落を形成し表面は湿潤していた。Empecid を滴下した小濾紙片の周囲は1日目にすでに白濁していた。この白濁した部分は経時的に輪状に拡大した(図1B)。

2) 走査型電子顕微鏡所見

対照の *Candida albicans* 集落から得た標本では菌糸と孢子が密に存在し、また卵形や球形の分芽孢子 *blastospore* も密に存在していた。厚膜孢子の出現は少なかった(図2)。

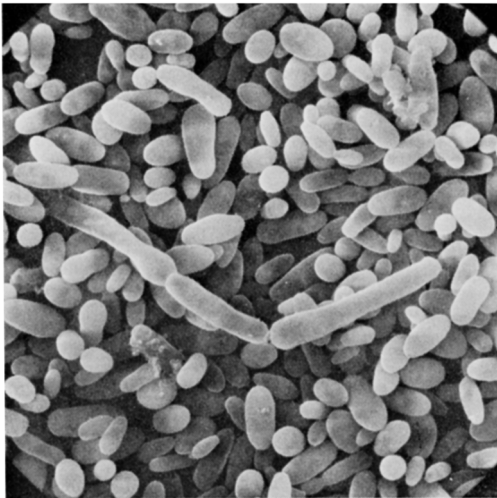


図2 対照群の *candida* 集落。2600倍。
無数の分芽孢子と菌糸がみられる。

Empecid 滴下後の標本では、まず菌糸の変性像がみられ、しだいに孢子の変性像がみられた。すなわち菌糸の細胞膜が変形し、その表面は海绵状となり、あたかも菌糸が collapse をおこなっているようにみえた(図3)。孢子も種々の程度の変性像を示していた。すなわち孢子が膨化し、緊張したり、平坦でない不規則な表面像を示し、さらに毛球様の表面像を呈している孢子も部分的に観察された(図4)。

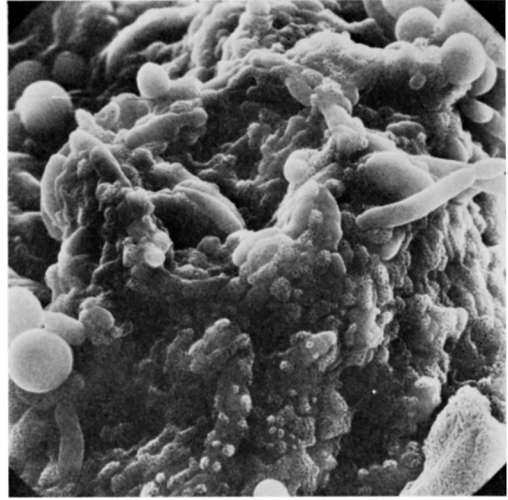


図3 Empecid 滴下後2日目の *candida* 集落。
6000倍。
菌糸の多くは変性をおこなっている。わずかに丸い厚膜孢子と菌糸の増殖がみられる。

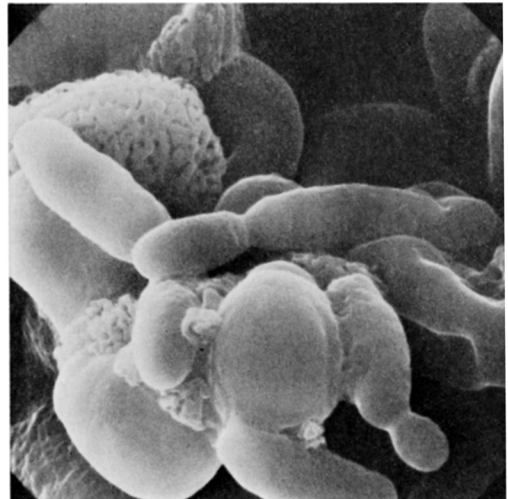


図4 毛球様変性をおこなった孢子。10000倍。
菌糸の細胞膜変性もみられる。

ま と め

Empecid の抗真菌作用の評価法に関してはすでに BARTMANN らの報告がみられる。すなわち BARTMANN らは *candida* を含む各種の真菌を同じ条件で培養できる培地を試作し、この中に disc 法と同じ方

法で各種の抗真菌剤を滴下し、その結果、静菌されていく真菌量を抗真菌作用として評価した。

われわれは Empecid の抗真菌作用を形態学的に評価する目的で *Candida albicans* を用い、Empecid によつて静菌されていく動態を走査電顕的に観察した。すなわち、Empecid を培地に滴下することによつて *candida* 集落は、あたかもたがいに融解するようになり、その結果として培地が白濁し、しだいに白濁像の大きさを増すことを知った。この状態を走査型電顕で観察すると、Empecid は初めに菌糸の細胞膜を障害し、ついで胞子の細胞膜に作用していることを知った。Empecid の作用を回避するように一部の胞子は厚膜胞子を形成していた。細胞膜の変性が初めに現われる所見については、膜構成成分の一つである phospholipid に Empecid が直接作用したためであると考えることが妥当のようである²⁾。

文 献

- 1) BARTMANN, K. *et al.*: Neue Testmethoden in der Mykologie. Münch. Med. Wschr. 118 Suppl. 1: 6-11, 1976.
- 2) 小笠原一夫他 著: 微生物学入門. 295-343, 朝倉書店.

質 疑 応 答

馬場 (名古屋市大) Empecid は市販されていま

すか(?) 局所応用のみにしか使えませんか(?)

伊藤 (金沢医大) 市販されています。残念ながら局所にしか使用出来ないようです。

馬場 多剤との併用で効果があがることは期待されますか(?)

伊藤 実際に使用したわけではないが、多剤併用の方が効果が見込めると思う。

岩沼 (札幌通信) (1) Empecid の各希釈濃度段階での真菌の形態学的変化を観察されたか。

(2) 真菌と他細菌との混合感染の場合、臨床的にいかに抗真菌剤と他抗生物質を使用されておられるか。

伊藤 (1) 今回の観察は Empecid の濃度を一定(1.0%)にして行いました。

(2) 抗生剤の局所投与を連用した場合、真菌が検出されるようになる可能性が高いと思いますが、そのような場合は抗真菌剤のみを一定期間使用する方法を試みています。

大山 (鹿大) ナマコ状と表現された菌糸の表面 SEM 像は、単独菌糸の膨化かあるいは複雑の菌糸の癒合によるものか、御教示下さい。

伊藤 菌糸が変性した部分(ナマコ状と表現した部)は、走査型電顕像を見る限りでは変性した菌糸が融合していると考えられるが、今後は透過型電顕を用いて検討して行く必要があると思つている。

習慣性咽頭炎における唾液および血清中免疫グロブリン (IgA, IgM, IgG) の変動について

栗 山 一 夫 ・ 馬 場 広 太 郎
奥 沢 裕 二 ・ 古 内 一 郎 *

粘膜が細菌の侵入門戸としての役割りを果していることは広く知られているところであるが、この際粘膜分泌液中の secretory IgA が感染防御機構に重要な意義をもつことが近年多くの研究結果から立証されている。このことは IgA 欠損症患者の多くが上気道感染症や消化器症状を呈してくることからも明らかであ

るといえる。

そこで今回は習慣性咽頭炎患者の流出唾液中 IgA に併せて血清 IgA の定量を行ったが、この試みは antiseptic paint といわれる粘膜分泌液中の IgA による防御機構の機作解明の手がかりの一端が得られるかとも考え検討したものである。

* 独協医科大学耳鼻咽喉科学教室