

ヒト由来 *Propionibacterium* の薬剤感受性

岸 下 雅 通

京都大学医学部微生物学教室

(主任：伊藤洋平教授)

牛 嶋 疆

滋賀医科大学微生物学教室

(主任：尾崎良克教授)

(昭和 53 年 7 月 21 日受付)

はじめに

Propionibacterium の薬剤感受性に関する研究は、瘻口関係から、その殆んどが *P. acnes* に限られ、他の種についての報告は¹⁾²⁾³⁾、まだないようである。本研究では、ヒト由来の本属 7 菌種について、薬剤感受性を示したので報告する。

材料ならびに方法

1) 供試菌：ヒト糞便または菌垢由来 22 株、ヒト皮膚由来 67 株で⁴⁾、前者の分離には、さきに報告した選択性培地⁵⁾を使用した。

分離株の菌種同定は、主に Anaerobe Laboratory manual, 3rd Edition⁶⁾に従った。

これらの菌種ならびに用いた株数は、Table 1 に記しておおりである。

2) 供試薬剤：

Ampicillin (ABPC)

Kanamycin (KM)

Streptomycin (SM)

Aminodeoxykanamycin (AKM)

Fradiomycin (FRM)

Cephaloridine (CER)

Midecamycin (MDM)

Tetracycline (TC)

Chloramphenicol (CP)

Fusidic acid (FA)

以上 10 種

Methacycline (MTC) も一部の菌種で使用した。

3) MIC の測定：供試菌を 18~24 時間前培養後、嫌気性菌用に調整したペプトン水 (トリプティケース (BBL) : 1.0 g/dl, NaCl : 0.5 g, L-システイン HCl : 0.03 g, pH 6.8) で McFarland No.1 の濃度に希釈し、供試菌液とした。この菌液 1 白金耳を、供試薬剤を各種濃度に含む試験培地 (トリプティケース (BBL) : 1.5 g/dl, 酵母エキス (BBL) : 0.3 g, ハートエキス (ニッスイ) : 0.3 g, NaCl : 0.2 g, K₂HPO₄ : 0.2 g, L-システイン HCl : 0.03 g, Tween 80 : 0.025 ml, 寒天 1.5 g, pH 6.8) の平板上に塗抹した。培養は、37°C, 48 時間スチールウール法 (CO₂ : 10%, N₂ : 90%) で行なった。

その他、MIC 測定法の詳細については、日本化学療法学会の定めるところに準じた⁷⁾。

4) TC の抗リパーゼ作用：TC については、ヒト皮膚由来株で、抗リパーゼ作用も検討した。

すなわち試験培地の一部を変更 (Tween 80 を Tween 60 : 0.1 ml/dl ならびにグルコース, CaCl₂ (無水) を、それぞれ 0.1, 0.01 g 追加) し、リパーゼ検査培地⁸⁾とし TC を各種濃度に加え平板とした。前培養分離株ならびに顔面擦過材料を希釈後、その 0.1 ml を上記平板上に塗抹した。培養は、37°C, 3 日間、スチールウール法で行ない、生じたリパーゼ陽性および陰性集落 (リパーゼ陽性の場合、集落の周りにステアリン酸カルシウムの沈殿が観察される) を、それぞれ集計し、TC の MIC と抗リパーゼ作用について検討した。

Table 1 The source of *Propionibacterium* tested

Species	Strains tested	Source
<i>P. acnes</i>	46	skin
	2	ATCC 11827 ATCC 11828
	1	feces
<i>P. acidi-propionici</i>	6	feces
<i>P. avidum</i>	6	feces
	1	ATCC 25577
<i>P. freudeureichii</i> ss. <i>globosum</i>	1	unknown
<i>P. granulosum</i>	21	skin
	2	feces
	1	ATCC 25564
<i>P. jensenii</i>	2	feces
<i>P. lymphophilum</i>	5	dental plaque

Table 2 Susceptibility of *Propionibacterium* to ampicillin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>P. acnes</i>										2*	4	43	31**	12	8
<i>P. acidi-propionici</i>									100						
<i>P. avidum</i>									14	85					
<i>P. granulosum</i>											9**	11	65	15	
<i>P. jensenii</i>										50	50				
<i>P. lymphophilum</i>												100			
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>									100						

* : Percentage, ** : Include strains isolated from feces

Table 3 Susceptibility of *Propionibacterium* to kanamycin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>P. acnes</i>	41	49**	10												
<i>P. acidi-propionici</i>		14	72	14											
<i>P. avidum</i>	100														
<i>P. granulosum</i>	8**		19	65	8										
<i>P. jensenii</i>	100														
<i>P. lymphophilum</i>			60	40											
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>	100														

Table 4 Susceptibility of *Propionibacterium* to streptomycin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>P. acnes</i>				8	48**	36	4	4							
<i>P. acidi-propionici</i>						50	50								
<i>P. avidum</i>				33	67										
<i>P. granulosum</i>				16**		42	25	17							
<i>P. jensenii</i>	100														
<i>P. lymphophilum</i>						100									
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>				100											

結 果

薬剤感受性の測定結果を、Table 2~11 に集めた。中谷⁹⁾に従って、25 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性、1.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下を感受性と判定した。

ABPC では、全菌種 0.78 $\mu\text{g/ml}$ またはこれ以下の濃度で、発育が阻止され、耐性株はなかった (Table 2)。

KM については、*P. granulosum* は 92% が耐性で、他菌種では供試菌が、全て耐性であった (Table 3)。

SM については、*P. acnes*、*P. avidum*、*P. granulosum*、*P. jensenii* で耐性株が認められた (Table 4)。なお、

P. granulosum の耐性株は、糞便由来株だけで、同標準株の MIC は、1.56 $\mu\text{g/ml}$ であった。

AKM については、全菌種で耐性株が認められたが、*P. granulosum* では、糞便由来株だけの MIC が、10 $\mu\text{g/ml}$ と高い値を示した (Table 5)。

FRM では、*P. acidi-propionici* を除く、他全菌種で耐性株が認められた。*P. granulosum* では、同じく糞便由来株だけが耐性であった (Table 6)。

CER については、全菌種 0.78 $\mu\text{g/ml}$ またはこれ以下で発育が阻止されたが、菌種別に比較すると、*P. acnes*

Table 5 Susceptibility of *Propionibacterium* to aminodeoxykanamycin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>acnes</i>		17	67**	13	3										
<i>acidi-propionici</i>				100											
<i>avidum</i>		100													
<i>granulosum</i>		17**		42	33	8									
<i>jensenii</i>		100													
<i>lymphophilum</i>		33		67											
<i>freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>		100													

Table 6 Susceptibility of *Propionibacterium* to fradiomycin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>acnes</i>			16**	72	12										
<i>acidi-propionici</i>							50	50							
<i>avidum</i>			67	33											
<i>granulosum</i>			17**		8	50	25								
<i>jensenii</i>	50	50													
<i>lymphophilum</i>				33	33	34									
<i>freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>			100												

Table 7 Susceptibility of *Propionibacterium* to cephaloridine

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>acnes</i>												24	28	4**	44
<i>acidi-propionici</i>											100				
<i>avidum</i>											33	67			
<i>granulosum</i>										76	8	8**	8**		
<i>jensenii</i>								100							
<i>lymphophilum</i>									100						
<i>freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>												100			

Table 8 Susceptibility of *Propionibacterium* to midecamycin

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025>
<i>acnes</i>											36	60	4**		
<i>acidi-propionici</i>											100				
<i>avidum</i>											100				
<i>granulosum</i>											42**	33	25		
<i>jensenii</i>						100									
<i>lymphophilum</i>											33	67			
<i>freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>											100				

Table 9 Susceptibility of *Propionibacterium* to tetracycline

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025)
<i>P. acnes</i>										80**	16	4			
<i>P. acidi-propionici</i>										100					
<i>P. avidum</i>									33	67					
<i>P. granulosum</i>										100**					
<i>P. jensenii</i>				50						50					
<i>P. lymphophilum</i>										100					
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>										100					

Table 10 Susceptibility of *Propionibacterium* to chloramphenicol

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025)
<i>P. acnes</i>									14	77**	2	3	4		
<i>P. acidi-propionici</i>									100						
<i>P. avidum</i>								29	71						
<i>P. granulosum</i>									29**	21	50				
<i>P. jensenii</i>						100									
<i>P. lymphophilum</i>									25	75					
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>								100							

Table 11 Susceptibility of *Propionibacterium* to fusidic acid

Species	Number of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0.05	0.025	0.025)
<i>P. acnes</i>									88**	8	4				
<i>P. acidi-propionici</i>									100						
<i>P. avidum</i>								67	33						
<i>P. granulosum</i>								8**	50**	42					
<i>P. jensenii</i>								50	50						
<i>P. lymphophilum</i>								33	33	34					
<i>P. freudenreichii</i> ss. <i>globosum</i>									100						

の感受性が最も高かった (Table 7)。また、*P. acnes* の標準株 ATCC 11827 の MIC が $0.0125 \mu\text{g/ml}$ 以下であったのに対し、ATCC 11828 のそれは、 $0.1 \mu\text{g/ml}$ で差が認められた。

MDM では、*P. jensenii* だけが $6.25 \mu\text{g/ml}$ の MIC であったが、他菌種では、 $0.05 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ の低濃度で発育が阻止された (Table 8)。

TC については、*P. jensenii* の 1 株で耐性が認められた。他菌種の MIC は、 $0.1 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ の低い値であった (Table 9)。

CP では、MIC の幅が大で $0.05 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ に分

布した。 $6.25 \mu\text{g/ml}$ は *P. jensenii* で、他菌種では、 $1.56 \mu\text{g/ml}$ またはこれ以下であった (Table 10)。

FA は、どの菌種もほぼ同じ程度の MIC で、その値は $0.2 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ の狭い範囲に分布した (Table 11)。

過去 *P. acnes* と *P. granulosum* の分別は、正確さを欠き問題が多かった^{10,11,12}。また、*P. acnes* については血清型が 2 つある^{8,17}。このため、これら 2 菌種および血清型別に MIC の分布を比較検討したのが Table 12 である。*P. acnes* の血清型による分布の差は、ほとんど認められなかったが、*P. acnes* と *P. granulosum* では、CER で最も大きく相違し、後者がより高い値を

Table 12. The distribution of MIC on *P. acnes* and *P. granulosum* isolated from normal human skin

Antibiotics	MIC of antibiotics ($\mu\text{g/ml}$)															
	>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	0.05	0.025	0.025>	
Ampicillin																
Kanamycin																
Streptomycin																
Aminodeoxykanamycin																
Fradimycin																
Cephaloridine																
Midecamycin																
Tetracycline																
Methacycline																
Chloramphenicol																
Fusidic acid																

--1-- : *P. acnes* serotype I (36 strains), --2-- : *P. acnes* serotype II (10 strains)

--3-- : *P. granulosum* (24 strains)

The position of 1, 2 and 3 shows the mean value of distribution.

Table 13 The repression of lipase activity of *Propionibacterium* by tetracycline Incubation : 37°C for 3 days

TC ($\mu\text{g/ml}$)	Scraped material of human facial skin		<i>P. acnes</i> S-21 (pure culture)	
	Lipase +	Lipase -	Lipase +	Lipase -
3.125	0*	0	0	0
1.56	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0
0.39	0	6	0	0
0.20	10	176	0	2
0.10	10	177	5	439
0.05	120	93	516	0
0.025	106	113	485	0
0.013	106	89	447	0
0.0063	120	104	421	0
0.0032	117	112	505	0
0	98	100	478	0

* : Number of colonies/plate

した。TCの抗リパーゼ作用についての検討結果を、Tableに示した。顔面擦過材料の直接塗抹（この中に含まれる細胞のほとんどが、*Propionibacterium*と考えられり）では、TC 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で、リパーゼ陽性・陰性集落が、ほとんど等しく、0.1~0.39 $\mu\text{g/ml}$ では、リパーゼ陰性集落が優位に多くなっている。純培養の分離株

P. acnes S-21については、0.05 $\mu\text{g/ml}$ 以下では生じた集落は、全てリパーゼ陽性であったが、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上では、リパーゼ陰性集落が、逆に優位を占めた。このことから、TCの抗リパーゼ作用は、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上で現われることがわかった。これは、TCのMICの1/8~1/4の濃度であった。さて、リパーゼ陽性の集落に比べて、陰性の集落の直径が、1/3またはこれ以下と小さか

ったことから推定して、0.1 $\mu\text{g/ml}$ ~MIC の1/2濃度域でのリパーゼの抑制は、TC による増殖速度の低下にもとづくものと考えられた。なお、MIC 以上の TC を含む平板の塗抹部位を、培養7日において、白金耳で擦過し、半流動培地に接種・培養したところ、全ての濃度において菌の増殖をみた。従って、TC は MIC 以上の濃度においても、殺菌的ではなくむしろ静菌的に作用するものと考えられた。

考 察

今回の結果のうち *P. acnes* について、諸家の成績と比較すると、MARTIN らは、TC, CP については、それぞれ 1.6, 3.1 $\mu\text{g/ml}$ 以下で発育を阻止し、KM については、81% が耐性であるとしている¹⁾。朝田らは、ABPC, TC, CP では、それぞれ 0.08, 1.25, 0.63 $\mu\text{g/ml}$ 以下で発育を阻止したとしている³⁾。これら3薬剤についての私たちの結果も、ほぼ同様であった (Table 12)。

アミノグルコシドは、嫌気性菌に対する感受性がおおむね低いとされている¹³⁾。滝沢は、SM, KM, GM, FRM のうち KM の感受性が最も低かったと報告しているが²⁾、私たちの結果でも同様に KM, AKM, FRM, SM の順に、MIC が小となった (Table 12)。さて、今回検討したその他の *Propionibacterium* においても、アミノグルコシドの感受性は、低かったが SM, FRM で *P. granulorum* の糞便由来株だけが耐性を示し、他由来株が感受性であった点から、本菌種の由来の相違による、耐性獲得を示唆するものであろう。

SHALITA らは臍臓リパーゼ、PUHVEL らは *P. acnes* のリパーゼを用い、TC 系薬剤だけが、直接リパーゼ活性を抑制する作用があったと報告した^{14,15)}。VOSS は、TC を投与した場合に、痤瘡内菌数の減少に先立って、遊離脂肪酸の減少がおこることから、TC の優れた痤瘡治療効果の一因として、その直接の抗リパーゼ作用を重視する意見を述べている¹⁶⁾。TC を投与した場合の皮膚内濃度は、測定者によりかなり異なるが、最大 3 $\mu\text{g/ml}$ 程度である。ただし炎症部では、さらに高く 25~30 $\mu\text{g/ml}$ にもなるともされている。しかし TC がリパーゼ活性を直接抑制するのは、6.6 あるいは 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上とされ、その 80% 以上の活性を抑制するには、500 $\mu\text{g/ml}$ の高濃度を要するとされている^{3,15)}。従って、皮膚において、TC が直接リパーゼ活性を抑制するという考えに、疑問をもつ向きもある。朝田は、TC の *P. acnes* に対する MIC の 1/10 の濃度でも、電顕の形態に異常の認められることから、この TC 濃度においても、本菌のリパーゼ産生の低下または消失があるのではないかという推定を行なっている³⁾。私たちの今回の

検討により、この点が明らかにされた。すなわち、TC による抗リパーゼ作用は、MIC の 1/4~1/8 の 0.1 $\mu\text{g/ml}$ から現われ、MIC では、リパーゼ作用がほとんど完全に抑制されることがわかった。

Propionibacterium の産生するリパーゼは、皮脂中のトリグリセライドを分解し、グリセリンと脂肪酸を遊離し、これを利用するにあると考えられる。従って、菌の増殖が旺盛な場合に、多量のリパーゼが産生・放出されることになる。私たちの結果は、それを裏付けるものでもある。従って、VOSS らのいう TC 投与後の皮脂中の遊離脂肪酸の減少は、その皮膚内濃度と直接のリパーゼ活性・増殖抑制濃度の関連からみて、直接 TC がリパーゼ活性を抑制するのではなく、*Propionibacterium* の増殖抑制によるリパーゼ産生の低下が、主因と考えられるほうが妥当であろう。

なお、TC に耐性を示した *P. jensenii* については、R 因子の有無等の検討を行ない報告していきたい。

ま と め

Propionibacterium の7菌種96株 (ヒト由来新鮮分離株および ATCC 標準株) で、10種の抗生物質について、薬剤感受性試験を行なった。

Propionibacterium は、被検菌株のほとんどが、KL, SM, AKM, FRM のアミノグルコシドに耐性であったが、ABPC, CER, MDM, TC, CP, FA に対しては、感受性であった。しかしながら、糞便由来 *P. jensenii* の1株は、TC 耐性であった。

ヒト皮膚由来 *P. acnes* の血清型による薬剤感受性の差異を検討したが、顕著な差異は認められなかった。

TC の抗リパーゼ作用は、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で認められた。

稿をおおるに際し、ご校閲を賜りました、恩師 伊藤洋平教授に深謝致します。

文 献

- MARTIN, W. J. ; M. GARDNER & J. A. WASHINGTON II : *In vitro* antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens. *Amer. Soc. Microbiol.* 1(2) : 148~158, 1972
- 滝沢清宏 : 痤瘡と細菌。皮膚科の臨床17(7) : 46~474, 1975
- 朝田康夫 : 細菌学的にみた尋常性痤瘡とその治療。日本皮膚科学会誌 86(10) : 653~661, 1976
- 岸下雅通 : ヒト皮膚常在菌 *Propionibacterium acnes* の細菌学的並びに生物学的意義について。第1報。分離培養法の検討。皮膚科紀要 73(1,2) : 1~10, 1978
- 牛嶋 強, 岸下雅通, 尾崎良克 : *Propionibacterium* の選択分離培地。医学と生物学 96(4) : 297~301, 1978

- HOLDEMAN, L. V. & W. E. C. MOORE : Anaerobe Laboratory Manual (3rd Edition), Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 1975
- 大越正秋 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22(6) : 1126~1128, 1974
- 岸下雅通, 牛嶋 彊, 尾崎良克 : 平板法による *Propionibacterium* のリパーゼ検査の至適条件。医学と生物学 (投稿中)
- 中谷林太郎 : 薬剤耐性。東京・講談社, 1977
- WHITESIDE, J. A. & J. G. VOSS : Incidence and lipolytic activity of *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium acnes* Group I) and *P. granulosum* (*C. acnes* Group II) in acne and in human skin. J. Invest. Derm. 60(2) : 94~97, 1973
- CUMMINS, C. S. & J. L. JOHNSON : *Corynebacterium parvum* : a synonym for *Propionibacterium acnes*? J. Gen. Microbiol. 80 : 433~442, 1974
- 12) 岸下雅通 : ヒト皮膚常在菌 *Propionibacterium acnes* の細菌学的並びに生物学的意義について。第2報。ヒト顔面に於ける分布とその2, 3の性状。皮膚科紀要 73(1, 2) : 11~16, 1978
- 13) 小酒井望, 鈴木祥一郎 : 嫌気性菌と嫌気性菌症。東京・医学書院, 1968
- 14) SHALITA, A. R. & V. WHEATLEY : Inhibition of pancreatic lipase by tetracyclines. J. Invest. Derm. 54(5) : 413~415, 1970
- 15) PUHVEL, S. M. & R. M. REISNER : Effect of antibiotics on the lipases of *Corynebacterium acnes in vitro*. Arch. Derm. 106 : 45~49, 1972
- 16) VOSS, J. G. : Acne vulgaris and free fatty acids. Arch. Derm. 109 : 894~898, 1974
- 17) 岸下雅通 : ヒト皮膚常在菌 *Propionibacterium acnes* の細菌学的並びに生物学的意義について。第3報。ヒト皮膚由来 *P. acnes* の生物学的・血清学的型別とその分布。皮膚科紀要 73(1, 2) : 17~23, 1978

A STUDY ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *PROPIONIBACTERIUM* ISOLATED FROM HUMAN

MASAMICHI KISHISHITA*

Department of Microbiology, Faculty of Medicine,
Kyoto University, Kyoto
(Director : Prof. YOHEI ITO)

TsUTOMU USHIJIMA

Department of Microbiology, Shiga University of
Medical Science, School of Medicine, Otsu
(Director : Prof. YOSHIKATSU OZAKI)

The minimum inhibitory concentration (MIC) of 10 different antibiotics for 7 species of *Propionibacterium* (total 96 strains) isolated from human skin, feces and dental plaque were determined by the standardized plate dilution technique.

Almost all of test species of *Propionibacterium* were resistant to 4 aminoglycosides (kanamycin, streptomycin, aminodeoxykanamycin and fradiomycin), but were sensitive to ampicillin, cephaloridine, nidecamycin, tetracycline, chloramphenicol and fusidic acid, although a strain of *P. jensenii* isolated from feces was found to be resistant to tetracycline.

The difference of MIC of 11 antibiotics for 2 serotypes of *P. acnes* isolated from human skin was not observed.

The repression of lipase activity of *Propionibacterium* by tetracyclin was studied with our agar plate method modified SIERRA's one, and it was observed more than a concentration of 0.1 $\mu\text{g/ml}$ of the antibiotic.