

## アトピー性皮膚炎に対する自家製ヒノキチオール軟膏の使用経験

—皮表分離 *Staphylococcus aureus* との関連において—

秋山 尚範・鳥越利加子・神崎 寛子・荒田 次郎

岡山大学医学部皮膚科学教室\* (主任: 荒田次郎教授)

(平成6年6月7日受付・平成6年7月11日受理)

アトピー性皮膚炎患者の皮膚病変部の重症度 (severity score)、癢疹と *Staphylococcus aureus* の菌量測定をヒノキチオール軟膏外用前後に行った。ヒノキチオール軟膏は細かく砕いたヒノキチオールの結晶を白色ワセリンと亜鉛華 (10%) 単軟膏を 1:1 に混和した軟膏に混入して作製した。ヒノキチオール軟膏の外用前後に皮膚病変より分離された *S. aureus* の細菌学的検討を行った。

### 1. ヒノキチオール軟膏の皮疹、癢疹に対する有効性

ヒノキチオール軟膏外用後、皮疹の重症度 (重症, 中等症, 軽症) が外用前に比べ1ランク以上下がった場合を有効例, それ以外を無効例とすると 17/33 (51.5%) が有効例となる。癢疹の症状を 0~4 で示した場合, 癢疹が外用前に比べ 1/2 以下になった場合を有効例, それ以外を無効例とすると 16/33 (48.5%) が有効例となる。有効例で無効例より *S. aureus* の菌数が外用前に比べ 1/10 以下に低下する場合の割合いが有意に多い。臨床的に感染症の所見を認める場合でもヒノキチオール軟膏は有効性を認めた。ヒノキチオール軟膏外用後耐性菌の選択は見られなかった。

### 2. ヒノキチオールのアトピー性皮膚炎の皮膚病変より分離された *S. aureus* に対する抗菌力

ヒノキチオールの最小発育阻止濃度 (MIC) は測定培地が Mueller-Hinton 液体培地単独ではピークは 64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であるが, 塩化亜鉛・酸化亜鉛を加えるとピークは 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に低下した。ヒノキチオールの殺菌力は酸化亜鉛を加えた場合, 株によっては増加が認められた。

ヒノキチオール軟膏は *S. aureus* が関与すると思われる急性湿潤病変などの急性増悪の初期治療としては有用ではないかと考えられるため, 我々は現在 0.2% ヒノキチオール軟膏を院内製剤として作製し, アトピー性皮膚炎患者の治療に応用している。

**Key words:** アトピー性皮膚炎, ヒノキチオール軟膏, 亜鉛, *S. aureus*

アトピー性皮膚炎の皮膚病変部では高頻度に *Staphylococcus aureus* が検出される<sup>1-3)</sup>。*S. aureus* の定量的検討より, *S. aureus* の菌数が  $10^8$  cfu/cm<sup>2</sup> ≤ で *S. aureus* の存在は皮膚炎の増悪因子であると考えられている<sup>6,7)</sup>。台湾ヒノキ油, 青森産ヒバ油および Western Red cedar oil などのなかに存在する結晶性物質であるヒノキチオール ( $\beta$ -thujaplicin)<sup>8-10)</sup> は耐性菌の出現がほとんどなくすぐれた抗菌作用を有することが知られているため, 我々はヒノキチオール軟膏を作製しアトピー性皮膚炎症例に外用した。ヒノキチオール軟膏外用の臨床的効果およびヒノキチオールの抗菌力について報告する。

## I. 材料および方法

### 1. 検討症例

岡山大学皮膚科で 1993 年 12 月から 1994 年 2 月の間に経験したアトピー性皮膚炎患者 32 名, 33 機会 (以下 case という言葉であらわす) である。内訳は入院 8 名 (9 cases), 外来 24 名 (24 cases) である。アトピー性皮膚炎の診断は日本皮膚科学会の診断基準<sup>11)</sup>にあうものを選択した。

### 2. 皮膚病変部の severity score と癢疹

皮膚病変部を紅斑, 丘疹, 水疱, 浸出液, 表皮剝離, 鱗屑, 苔癬化の各々について重症を 3, 中等症を

\* 岡山市鹿田町 2-5-1

2, 軽症を1, なしを0とした合計を severity score<sup>7)</sup>として示した。Severity scoreが1~7を軽症例, 8~14を中等症例, 15~21を重症例とした。掻痒は自己申告による日中の症状を0~4で示した。0は「ほとんどあるいはまったく痒みを感じない」もの, 1は「時にむずむずするが, とくに搔かなくても我慢できる」もの, 2は「時に手がゆき, 軽く搔く程度で一応おさまりあまり気にならない」もの, 3は「かなり痒く, 人前でも搔く。痒みのためイライラし, たえず搔いている」もの, 4は「いてもたってもおれない痒み。搔いてもおさまらず, ますます痒くなり仕事も勉強も手につかない」ものとした。

### 3. ヒノキチオール軟膏の作製

乳棒で細かく砕いたヒノキチオール<sup>®</sup> (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>=164.20, 和光純薬工業)の結晶を白色ワセリン<sup>®</sup> (丸石製薬)と亜鉛華(10%)単軟膏<sup>®</sup> (藤沢アストラ)を1:1に混和した軟膏に混入し乳鉢中で全体が均質になるまでかく拌した。0.1%, 0.2%, 1%濃度(重量比)にヒノキチオールを含有した軟膏を作製した。

### 4. ヒノキチオール軟膏の外用

皮膚病変部に患者自身が1日2回6~14日間単純塗布した。外用部位の内訳は顔面15 cases, 頸部12 cases, 軀幹・四肢6 casesである。ステロイド薬, 抗菌薬の内服, 外用の併用および抗アレルギー薬の新たな併用は行わなかった。

### 5. *S. aureus*の定量的検討<sup>7)</sup>

ヒノキチオール軟膏の外用治療前後に同一皮膚病変部より*S. aureus*の定量的検討を行った。断面面積3.13 cm<sup>2</sup>のガラス円筒を皮膚面に密着させ, 中にTriton X-100加PBS (phosphate-buffered saline, pH 7.4)を2 ml入れ滅菌ガラス棒で皮膚面を1分間回転しながら強くこすり, この洗浄液を滅菌小試験管に回収した。この回収液をPBSを用いて10, 100, 1,000, 10,000倍に希釈した。各々の希釈系列の0.1 mlをMueller-Hinton寒天培地(Difco)に滴下後コンラージ棒ニッスイ<sup>®</sup> (日水製薬)で均一に塗布し, 37°Cに静置した。発育コロニー数を計算し, 1 cm<sup>2</sup>あたりの菌数を算定した。発育した任意の10コロニーをMueller-Hinton寒天培地に釣菌し, スタフォレックス<sup>®</sup> (黄色ブドウ球菌同定用キット) (Wellcome Diagnostics) 陽性を*S. aureus*とした。

### 6. コアグララーゼ型測定

発育した*S. aureus*のコアグララーゼ型別はブドウ球菌コアグララーゼ型別用キット<sup>®</sup> (デンカ生研)を用いて判定した。

### 7. Enterotoxin (SE), Toxic shock syndrome

### toxin-1 (TSST-1)の測定

発育した*S. aureus*をBrain Heart Infusion Broth<sup>®</sup> (日水製薬)に接種し, 37°Cで24時間振とう培養した。培養液を3,000 rpm, 20分間遠心し上清を検体とした。検体を希釈液で4, 16倍に希釈した。各検体にSE-A, B, C, DおよびTSST-1に対する特異抗体を感作したラテックス(デンカ生研)を同量滴下し, 室温で20時間静置後, 肉眼で凝集の有無を判定した。

### 8. 最小発育阻止濃度(MIC)の判定

発育した*S. aureus*のヒノキチオール, oxacillin (MIPIC)のMIC測定を日本化学療法学会標準法(微量液体希釈法)<sup>12)</sup>により行った。ヒノキチオールはメタノールの溶解可能な最小量で溶解させた後, 滅菌精製水を加えて希釈原液を作製した。ヒノキチオールのMICはMueller-Hinton液体培地(Difco)のみ, およびMueller-Hinton液体培地に塩化亜鉛(ZnCl<sub>2</sub>=136.30, 和光純薬工業)または酸化亜鉛(ZnO=81.37, 和光純薬工業)を各々200 μg/ml加えて行った。

### 9. ヒノキチオールの殺菌力の測定

発育した*S. aureus*をトリプトソーヤブイオン「ニッスイ」<sup>®</sup> (日水製薬)16 ml中で37°C, 24時間静置培養した後, 菌液を遠沈した。沈渣を滅菌生理的食塩水により3回洗浄した後16 mlの滅菌生理的食塩水に浮遊させた。菌液1 mlにヒノキチオール水溶液, 2.5%牛血製アルブミン(Albumin, Bovine, ナカライテスク)または酸化亜鉛200 μg/mlを加えたヒノキチオール水溶液, 酸化亜鉛200 μg/ml含有水溶液, 滅菌生理的食塩水の各々1 mlを混和し室温中に5時間放置した。滅菌生理的食塩水で各々の菌液の10倍希釈系列を作製し, 各希釈菌液0.1 mlを防腐剤不活化生菌数測定用SCDLP (Soybean-casein digest agar with lecithin & polysorbate 80)寒天平板培地「ダイゴ」<sup>®</sup> (日本製薬)にコンラージ棒ニッスイ<sup>®</sup>で接種した。37°C, 24時間培養後に発育コロニー数を計算し1 ml中のコロニー数を算定した。N=3の平均値を求めた。

## II. 結 果

### 1. 症例数および内訳

ヒノキチオール軟膏外用33 casesの結果をTable 1に示した。Case 6, 23は同一症例である。Case 1, 2, 4, 5, 6, 23, 24, 25, 27が入院症例で残りは外来症例である。Case 1, 2は0.1%ヒノキチオール軟膏を前額部, 上肢を左右に分けてそれぞれ外用した。Case 17~20は0.1%ヒノキチオール軟膏を外用後

Table 1-1. Cases (Hinokitliol Ointment)

Case no.	Age/Sex	IgE (IU/ml)	Site	Treatment Hinokitliol concentration (days)	Severity		Colony counts	<i>S. aureus</i>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		Coagulase type	TSS·SE (titer)		
					score	itching								
					b	b			b	b			b	b
					a	a	a	a	a	a	a			
1	30/M	30,229	rt Forehead	1% (14)	8	3	$1.5 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	128 0.25	II	D ( $16 \leq$ )		
					6	1	76	0%						
			lt Forehead	0.1% (14)	8	3	$6.0 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	128 0.25	II	D ( $16 \leq$ )		
					5	0	$1.3 \times 10^6$	10%	HK MPIPC	128 0.25	II	D ( $16 \leq$ )		
2	29/M	3,189	rt Arm	1% (4)	18	4	$7.6 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.12	n.t.	-		
					14	3	$1.3 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.12	n.t.	-		
			lt Arm	0.1% (4)	18	4	$9.6 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.12	n.t.	-		
					10	3	$1.9 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.12	n.t.	-		
3	12/F	429	Cheek	0.1% (7)	13	3	$3.6 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.25	III	-		
					8	1	$7.0 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.25	III	-		
4	13/F	12,000	Neck	0.1% (7)	17	3	$6.9 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.25	II	A ( $16 \leq$ ) D ( $16 \leq$ )		
					9	2	$7.3 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	128 0.25	II	A ( $16 \leq$ ) D ( $16 \leq$ )		
5	14/F	1,461	Neck	0.1% (7)	11	3	$8.1 \times 10^3$	90%	HK MPIPC	64 64	III	-		
					9	2	$7.8 \times 10^3$	100%	HK MPIPC	64 64	III	-		
6	26/M	30,856	Leg	0.1% (14)	16	4	$8.3 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 64	III	-		
					13	4	$4.0 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 64	III	-		
7	16/F	463	Neck	0.1% (14)	15	3	$7.1 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.5	VII	A ( $16 \leq$ ) B ( $16 \leq$ )		
					10	1	$6.5 \times 10^5$	100%	HK MPIPC	64 0.5	VII	A ( $16 \leq$ ) B ( $16 \leq$ )		
8	25/M	29	Neck	0.1% (6)	13	3	$1.1 \times 10^6$	100%	HK MPIPC	64 0.5	1	-		
					7	1	$6.4 \times 10^4$	100%	HK MPIPC	64 0.25	1	-		

b = before treatment

a = after treatment

Colony count (cfu/cm<sup>2</sup>)

HK: hinokitliol, MPIPC: oxacillin

TTS: Toxic shock syndrome toxin-1

SE: Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D

n.t.: not typable

Table 1-2. Cases (Hinokitiol Ointment)

Case no.	Age/Sex	IgE (IU/ml)	Site	Treatment Hinokitiol concentration (days)	Severity		Itching counts	Colony counts	<i>S. aureus</i>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		Coagulase type	TSS · SE (titer)		
					b	a				b	a			b	a
					a	a				a	a			a	a
9	26/F	512	Cheek	0.1% (6)	10	3	$3.0 \times 10^8$	100%	HK	64	VIII	-			
					6	2	$8.3 \times 10^4$	100%	MPIPC	0.5					
10	28/F	530	Forehead	0.1% (14)	14	3	$7.1 \times 10^8$	0%							
					12	3	$1.3 \times 10^8$	0%							
11	22/M	5,389	Neck	0.1% (14)	12	3	$5.1 \times 10^8$	90%	HK	64	VII	A ( $16 \leq$ )			
					7	1	$4.6 \times 10^8$	100%	MPIPC	0.25					
12	21/F	377	Neck	0.1% (7)	10	3	$2.1 \times 10^8$	0%							
					9	3	$1.3 \times 10^8$	0%							
13	3/M	1,639	Leg	0.1% (14)	14	3	$3.5 \times 10^8$	100%	HK	64	VII	TSS (1X)			
					11	2	$1.1 \times 10^8$	100%	MPIPC	0.25		B ( $16 \leq$ )			
14	15/M	695	Forehead	0.1% (14)	13	3	$7.0 \times 10^8$	100%	HK	64	V	-			
					9	1	$3.8 \times 10^8$	100%	MPIPC	1					
15	3/F	4,219	Hand	0.1% (14)	13	4	$4.2 \times 10^8$	100%	HK	64	V	-			
					10	3	$1.5 \times 10^8$	100%	MPIPC	1			n.t		
16	5/F	2,757	Chest	0.1% (14)	14	4	$1.6 \times 10^8$	100%	HK	128	VII	B (1X)			
					10	3	$1.2 \times 10^8$	100%	MPIPC	0.25		B (1X)			
17	20/F	7,544	Forehead	0.1% (7)	11	4	$8.4 \times 10^4$	100%	HK	64	VII	B ( $16 \leq$ )			
					6	2	$8.2 \times 10^8$	100%	MPIPC	0.25		B ( $16 \leq$ )			
					6	2	$8.2 \times 10^2$	100%	HK	64		B ( $16 \leq$ )			
					6	2	$6.3 \times 10^8$	100%	MPIPC	0.12		B ( $16 \leq$ )			

b = before treatment

a = after treatment

Colony count (cfu/cm<sup>2</sup>)

HK: hinokitiol, MPIPC: oxacillin

TSS: Toxic shock syndrome toxin-1

SE: Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D

n.t: not typable

Table 1-3. Cases (Hinokitil Ointment)

Case no.	Age/Sex	IgE (IU/ml)	Site	Treatment Hinokitil concentration (days)	Severity		Itching b/a	Colony counts b/a	<i>S. aureus</i> b/a	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		Coagulase type b/a	TSS·SE (titer) b/a		
					score	b/a				b/a	b/a			b/a	b/a
18	19/M	1,516	Chest	0.1% (14)	12	3	$1.8 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	VII	-				
					8	2	$2.6 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	VII	-				
				0.2% (10)	8	2	$2.6 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	VII	-				
					8	2	$3.1 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	VII	-				
19	7/F	768	Neck	0.1% (7)	13	3	$2.2 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.25	n.t.	-				
					7	2	$6.4 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.25	n.t.	TSS (1X)				
				0.2% (7)	7	2	$6.4 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.25	n.t.	TSS (1X)				
					7	3	$7.0 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.25	n.t.	TSS (1X)				
20	33/M	6,675	Cheek	0.1% (7)	12	3	$1.5 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.5	VII	TSS (1X) A ( $16 \leq$ )				
					9	2	$3.3 \times 10^8$	30%	HK 64 MIPIC 0.5	III	A ( $16 \leq$ )				
				0.2% (7)	9	2	$3.3 \times 10^8$	30%	HK 64 MIPIC 0.5	III	A ( $16 \leq$ )				
					8	2	$3.6 \times 10^8$	20%	HK 64 MIPIC 0.5	III	A ( $16 \leq$ )				
21	23/M	2,868	Forehead	0.2% (7)	19	4	$2.9 \times 10^7$	100%	HK 32 MIPIC 0.25	VII	B ( $16 \leq$ )				
					10	2	$1.1 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.25	VII	B ( $16 \leq$ )				
22	18/F	2,309	Neck	0.2% (7)	13	4	$7.8 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	n.t.	A ( $16 \leq$ ) B ( $16 \leq$ )				
					10	2	$1.2 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 0.12	n.t.	A ( $4 \times$ ) B ( $16 \leq$ )				
23	26/M	30,856	Cheek	0.2% (6)	16	4	$3.8 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 128	III	-				
					15	3	$1.2 \times 10^8$	100%	HK 64 MIPIC 64	III	-				
24	52/F	1,183	Forehead	0.2% (10)	15	3	$6.7 \times 10^8$	100%	HK 128,64 MIPIC 0.25,1	n.t., n.t.	B ( $16 \leq$ ), -				
					7	1	$3.3 \times 10^8$	100%	HK 128,64 MIPIC 0.25,1	n.t., n.t.	B ( $16 \leq$ ), -				

b = before treatment

a = after treatment

Colony count (cfu/cm<sup>2</sup>)

HK: hinokitil, MIPIC: oxacillin

TSS: Toxic shock syndrome toxin-1

SE: Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D

n.t: not typable

Table 1-4. Cases (Hinokitiol Ointment)

Case no.	Age/Sex	IgE (IU/ml)	Site	Treatment Hinokitiol concentration (days)	Severity		Itching	Colony counts	<i>S. aureus</i>	MIC ( $\mu$ g/ml)	Coagulase type	TSS · SE (titer)		
					score	score								
					$\frac{b}{a}$	$\frac{b}{a}$								
25	25/F	372	Neck	0.2% (6)		16	4	$9.8 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 2	II	-	
						9	2	$1.4 \times 10^8$	0%					
					*	11	3	$2.9 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 2	II	-	
26	26/F	5,942	Forehead	0.2% (7)		14	4	$5.9 \times 10^8$	100%	HK MIPIC	64 0.12	n.t.	-	
						5	1	$2.4 \times 10^4$	100%	HK MIPIC	64 0.12	n.t.	-	
27	14/F	2,613	Cheek	0.2% (7)		16	4	$6.7 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.12	n.t.	B (16 $\leq$ )	
						7	1	$5.7 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.12	V	-	
28	32/F	1,402	Neck	0.2% (7)		14	4	$2.0 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.12	VII	B (16 $\leq$ )	
						10	4	19	100%	HK MIPIC	64 0.12	VII	B (16 $\leq$ )	
29	18/M	954	Neck	0.2% (3) (4)		18	4	$1.1 \times 10^7$	100%	HK MIPIC	64 0.5	IV	-	
						14	3	$1.9 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.5	IV	-	
						7	1	$4.3 \times 10^4$	100%	HK MIPIC	128 1	IV	-	
30	10/M	19,218	Neck	0.2% (10)		13	4	$4.2 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.5	V	-	
						8	2	$9.6 \times 10^5$	100%	HK MIPIC	64 0.5	n.t.	-	
31	29/M	22,585	Cheek	0.2% (14)		16	4	$9.8 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64 0.25	III	A (16 $\leq$ )	
						10	4	$1.9 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	64,128 0.25,1	III, VIII	A(16 $\leq$ ),C(16 $\leq$ )	
32	13/M	2,865	Cheek	0.2% (7)		19	4	$1.9 \times 10^7$	100%	HK MIPIC	64 0.25	n.t.	-	
						10	4	$1.2 \times 10^6$	100%	HK MIPIC	128 0.5	III	-	
33	23/M	9,877	Forehead	0.2% (7)		14	3	$2.4 \times 10^5$	100%	HK MIPIC	64 0.25	VIII	TSS (1X)	
						10	1	$9.5 \times 10^4$	100%	HK MIPIC	128 0.12	n.t.	TSS (1X)	

b = before treatment

a = after treatment

Colony count (cfu/cm<sup>2</sup>)

HK: hinokitiol, MIPIC: oxacillin

TSS: Toxic shock syndrome toxin-1

SE: Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D

n.t: not typable

\*3 days after treatment

0.2%ヒノキチオール軟膏外用に変更した。表中の *S. aureus* の%は釣菌した任意の10コロニー中の *S. aureus* の比率を%を用いて示した。After treatmentの検討結果は治療開始後、treatmentの項の(days)で示した日数後のデータである。

今回用いた scrub 法では、回収液 2 ml 中の 0.1 ml を測定した (n=3)。そのため 20 cfu/cm<sup>2</sup> 未満の分布は正確には菌数測定できない。

2. ヒノキチオール軟膏の皮疹、癢痒に対する有効性 (Table 2)

ヒノキチオール軟膏外用後、皮疹の重症度 (重症, 中等症, 軽症) が外用前に比べ 1 ランク以上下がった場合を有効例, それ以外を無効例とすると 17/23 (51.5%) が有効例となる。これら有効 17 cases のうち 11 cases が *S. aureus* の菌数が外用前に比べ 1/10 以下となっている。一方, 無効例のうち外用前に *S. aureus* を検出した 14 cases では 2 cases が *S. aureus* の菌数が外用前に比べ 1/10 以下になったのみであった ( $\chi^2$  検定で有意水準 1% で *S. aureus* の菌数が減少する症例の比率は有効例と無効例の間に有意差あり)。

ヒノキチオール軟膏外用後、癢痒が外用前に比べ 1/2 以下となった場合を有効例, それ以外を無効例とすると 16/33 (48.5%) が有効例となる。これら有効 16 cases のうち 13 cases が *S. aureus* の菌数が外用前に比べ 1/10 以下となっている。一方, 無効例のうち外用前に *S. aureus* を検出した 15 cases では 2

cases が *S. aureus* の菌数が外用前に比べ 1/10 以下になったのみであった ( $\chi^2$  検定で有意水準 1% で *S. aureus* の菌数が減少する症例の比率は有効例と無効例の間に有意差あり)。

### 3. ヒノキチオールの MIC 測定結果

今回の検討でアトピー性皮膚炎の皮膚病変部より分離した *S. aureus* 73 株に対するヒノキチオールの MIC の結果を Table 3 に示した。測定培地が Mueller-Hinton 液体培地単独では MIC のピークは 64  $\mu$ g/ml であるが, 塩化亜鉛・酸化亜鉛を加えた Mueller-Hinton 液体培地を用いた場合には MIC のピークは 2  $\mu$ g/ml と低下した。

### 4. ヒノキチオールの殺菌力測定結果

アトピー性皮膚炎の皮膚病変部より分離した *S. aureus* 5 株に対するヒノキチオールの殺菌力の結果を Table 4 に示した。ヒノキチオールは株によっては牛血製アルブミンを加えた場合, 殺菌力の減少を示した。一方, ヒノキチオールは酸化亜鉛を加えた場合, 株によっては殺菌力の増加が認められた。

## III. 考 察

近年, 難治性の成人型アトピー性皮膚炎患者の増加が目ざれている<sup>13,14)</sup>。しかしアトピー性皮膚炎に対する確定的治療法はまだなく大きな社会問題となっている。これらの患者の皮膚病変部から高率に *S. aureus* が検出され<sup>1-9)</sup>、アトピー性皮膚炎患者に抗菌薬を投与すると皮膚病変部は容易にメチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) 優位の菌叢に菌交代する症例が

Table 2

Change in severity score after Hinokitioil Ointment topical application

Before	After	Case number
Severe	severe	1
Severe	moderate	7
Severe	mild	3
Moderate	moderate	15
Moderate	mild	7

Total 33

Severity Score: severe 15-21, moderate 8-14, mild 1-7

Change in itching after Hinokitioil Ointment topical application

Before	After	Case number
4	2 $\geq$	8
	3 $\leq$	8
3	1 $\geq$	8
	2 $\leq$	9

Total 33

Table 3. MIC distribution of *Staphylococcus aureus* isolated from atopic dermatitis patients

73 strains							
Hinokitiol concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	2	4	8	16	32	64	128
MHB					2	64	7
MHB+ ZnCl <sub>2</sub> (200 $\mu\text{g/ml}$ )	43	21	1	1		7	
MHB+ ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	30	21	10	12			

MIC: Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )

MHB: Mueller-Hinton Broth

Table 4. Antibacterial activity in SCDLP plate 5 h after inoculation

cfu/ml					
<i>S. aureus</i> strain number	Hinokitiol (0.2%)	Hinokitiol (0.2%) + Albumin, Bovine (2.5%)	Hinokitiol (0.2%) + ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	Saline solution
1	$6.0 \times 10^2$	$1.8 \times 10^5$	0	$9.4 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$
2	0	$2.2 \times 10^5$	0	$1.6 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$
3	$9.6 \times 10^2$	80	40	$3.4 \times 10^7$	$4.2 \times 10^7$
4	0	$7.2 \times 10^2$	0	$2.7 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$
5	40	20	0	$3.3 \times 10^6$	$2.1 \times 10^7$

<i>S. aureus</i> strain number	Hinokitiol (0.02%)	Hinokitiol (0.02%) + Albumin, Bovine (2.5%)	Hinokitiol (0.02%) + ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	Saline solution
1	$4.3 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$	$2.3 \times 10^6$	$9.4 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$
2	$8.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$2.4 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$
3	$8.0 \times 10^6$	$1.2 \times 10^7$	$2.1 \times 10^6$	$3.4 \times 10^7$	$4.2 \times 10^7$
4	$1.2 \times 10^7$	$2.4 \times 10^7$	$1.6 \times 10^6$	$2.7 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$
5	$8.2 \times 10^6$	$1.8 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$3.3 \times 10^6$	$2.1 \times 10^7$

<i>S. aureus</i> strain number	Hinokitiol (0.002%)	Hinokitiol (0.002%) + Albumin, Bovine (2.5%)	Hinokitiol (0.002%) + ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	ZnO (200 $\mu\text{g/ml}$ )	Saline solution
1	$6.2 \times 10^6$	$2.0 \times 10^7$	$3.6 \times 10^6$	$9.4 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$
2	$7.6 \times 10^6$	$1.2 \times 10^7$	$1.5 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$
3	$7.8 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$	$2.8 \times 10^6$	$3.4 \times 10^7$	$4.2 \times 10^7$
4	$2.2 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$	$6.0 \times 10^5$	$2.7 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$
5	$7.6 \times 10^6$	$1.9 \times 10^7$	$3.4 \times 10^5$	$3.3 \times 10^6$	$2.1 \times 10^7$

SCDLP: Soybean-casein digest agar with lecithin &amp; polysorbate 80 (DAIGO)

見られることは我々が報告している<sup>2,7,10)</sup>。

マウスクロトン油皮膚炎に *S. aureus* を塗布した感染実験で、白色ワセリンの外用群では非外用群より局所生菌数は増加した<sup>10)</sup>。アトピー性皮膚炎の治療として抗アレルギー薬内服と非ステロイド薬外用（白色ワセリン、亜鉛華単軟膏）の併用を行った6症例では、治療前の *S. aureus* の菌数が  $10^6 \sim 10^7$  cfu/cm<sup>2</sup> の場合、治療後に治療前に比べ1/10以下へ菌数が減少した症例は見られなかった<sup>7)</sup>。逆に菌数が増加し、感染症の症状が出現した症例が認められた<sup>7)</sup>。そのためこの菌数の症例ではヒノキチオール軟膏外用後に *S. aureus* の菌数が外用前の1/10以下に減少した場合はヒノキチオール軟膏外用の効果と考えられる。

ヒノキチオール軟膏外用後、皮疹が軽快する症例で *S. aureus* の菌数が減少する症例の割合が有意に多かった。この点はヒノキチオール軟膏外用により *S. aureus* の菌数が減少したため皮疹が軽快した可能性とヒノキチオール軟膏外用により皮疹が軽快したため *S. aureus* の菌数が減少した可能性が考えられる。皮疹の重症度と検出された *S. aureus* の enterotoxin (SE), toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 産生性に相関は見られなかった。

*S. aureus* の保有するプロテイン A<sup>17,18)</sup> およびペプチドグリカン<sup>19)</sup> は好塩基球からヒスタミンを遊離させることが実験的に証明されている。臨床的に、加賀美<sup>1)</sup> はアトピー性皮膚炎由来 *S. aureus* をヒトに接種すると、紅斑・浮腫の発生とともに強い痒痒が惹起すると報告している。向井ら<sup>20)</sup> は成人型アトピー性皮膚炎患者に細菌ワクチン療法を行うと表皮の細菌数が減少し、皮疹および痒痒が改善すると報告しており、*S. aureus* は痒痒に関係すると考えられている。今回の検討でもヒノキチオール軟膏外用後、*S. aureus* の菌数が減少すると痒痒が減少する症例が見られ、*S. aureus* の存在が痒痒の増悪因子になっている症例があることが示唆された。しかし case 28 のごとく *S. aureus* の菌数がヒノキチオール軟膏外用後著減しても痒痒は不変な症例や case 10, 12 のごとく *S. aureus* を検出しない症例でも痒痒を認め *S. aureus* が痒痒に無関係と考えられる症例も見られた。

ヒノキチオール軟膏外用後に得られた *S. aureus* ではヒノキチオール、MPIPC に対する MIC の上昇は見られなかった。すなわちヒノキチオール投与時には抗菌薬投与時に見られる MRSA (MPIPC・MIC $\geq$ 4  $\mu$ g/ml) への菌交代現象<sup>2,7,15)</sup> は見られず、ヒノキチオールは耐性株を選択しにくい薬剤と考えられる。Case 24, 31 では直径2cmの円形病巣内にコロニー

の色調および菌の性状が異なる2種の *S. aureus* が混在して検出された。ヒノキチオール軟膏外用後異なる性状の *S. aureus* が検出された症例が見られたが、元々コロニーの色調は同一でも異なる性状の *S. aureus* が病巣内に混在していた可能性も考えられるためヒノキチオール軟膏外用による菌交代かどうかは不明である。

ブドウ球菌属では同一菌株でヒノキチオールの低濃度で菌の発育がいったん阻止されるにもかかわらず、ヒノキチオールの高濃度で菌が再び増殖するいわゆる反転現象が見られる<sup>21)</sup>。ヒノキチオールは亜鉛化合物と併用するとこの反転現象が抑制され、抗菌力が増すことが報告されている<sup>21)</sup>。今回の検討でも亜鉛を加えるとヒノキチオールの MIC が低下し、殺菌力が増す *S. aureus* が存在することが確かめられた。一方、蛋白の存在下におけるヒノキチオールの殺菌力の変化を検討する目的で牛血製アルブミンを加えるとヒノキチオールの殺菌力が低下する *S. aureus* が存在する可能性が示唆された。臨床例でヒノキチオール軟膏を外用しても *S. aureus* の菌数が減少しない症例が存在することの1つの理由と考えられる。

臨床的に感染症の所見を認め *S. aureus* の菌量が  $10^7$  cfu/cm<sup>2</sup>  $\leq$  検出された3症例はヒノキチオール軟膏の外用で *S. aureus* の菌数が外用前の1/10以下となり臨床的にも感染症の所見は消失した。ヒノキチオール軟膏は *S. aureus* による感染症の所見を認める症例にも有用である。今回の検討でヒノキチオール軟膏を外用するも接触性皮膚炎を起こした症例や皮膚病変の程度が増悪した症例は見られなかった。ヒノキチオール軟膏は *S. aureus* が関与すると思われる急性湿潤性病変などの急性増悪の初期治療としては有用ではないかと考えられるため、我々は現在0.2%ヒノキチオール軟膏を院内製剤として作製し、アトピー性皮膚炎患者の治療に応用している。

#### 文 献

- 1) 加賀美深:アトピー性皮膚炎と細菌叢, 今村貞夫編:皮膚科 Mook 1, 103~108 金原出版, 東京, 1985
- 2) 秋山尚範, 下江敏生, 多田譲治, 荒田次郎:皮膚病変における *Staphylococcus aureus* の検出について. 日皮会誌 103: 1315~1322, 1993
- 3) Leyden J J, Marples R R, Kligman A M: *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis, Br J Dermatol, 90: 525~530, 1974
- 4) Aly R, Maibach H I, Shinefield H R: Microbial flora of atopic dermatitis, Arch Dermatol, 113: 780~782, 1977
- 5) 野口俊彦, 向井秀樹, 西岡 清, 西山茂夫:成人型アトピー性皮膚炎の顔面酒盤様皮膚炎における細菌

- の関与。日皮会誌 100: 929~934, 1990
- 6) Leyden J J, Kligman A M: The case for steroid-antibiotic combinations, *Br J Dermatol*, 96: 179~187, 1997
  - 7) 秋山尚範, 多田讓治, 鳥越利加子, 戸井洋一郎, 神崎寛子, 荒田次郎: アトピー性皮膚炎の皮膚病変部における *Staphylococcus aureus* の定量的検討, 日皮会誌, 印刷中
  - 8) Coombs R W, Trust T J: The effect of light on the antibacterial activity of  $\beta$ -thujaplicin, *Can J Microbiol* 19: 1177~1180, 1973
  - 9) Akers H A, Abrego V A, Garland E: Thujaplicins from *Thuja plicata* as Iron Transport Agents for *Salmonella typhimurium*, *J Bacteriol* 141: 164~168, 1980
  - 10) 小堀一二, 田辺忠夫: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対するヒノキチオールの抗菌作用。医学検査 42: 1639~1642, 1993
  - 11) アトピー性皮膚炎の定義・診断基準。日皮会誌 104: 68~69, 1994
  - 12) MIC 測定法委員会: 微量液体希釈による MIC 測定法 (微量液体希釈法)。Chemotherapy 38: 102~105, 1990
  - 13) 西岡 清: 成人型アトピー性皮膚炎。皮膚臨床 34: 1331~1337, 1992
  - 14) 多田讓治, 戸井洋一郎, 秋山尚範, 下江敬生, 荒田次郎: 顔面皮疹の高度なアトピー性皮膚炎。日皮会誌 103: 1429~1435, 1993
  - 15) 秋山尚範, 下江敬生, 多田讓治, 荒田次郎: 皮膚科医のための MRSA 対策。皮膚病診療 16: 62~69, 1994
  - 16) Akiyama H, Kanzaki H, Abe Y, Tada J, Arata J: *Staphylococcus aureus* infection on experimental croton oil-inflamed skin in mice, *J Dermatol Sci*, 8: 1~10, 1994
  - 17) Martin R P, Crowder J G, White A: Human reactions to staphylococcal antigens. A possible role of leukocyte lysosomal enzymes, *J Immunol*, 99: 269~275, 1967
  - 18) Petersson B A, Stalenheim G: Induction of histamine release and desensitization in human leukocytes. Effect of anti-IgE or protein A from *Staphylococcus aureus*, *Scand J Immunol*, 4: 103~112, 1975
  - 19) Norn S, Skov P S, Jensen C, Espersen F, Jarløv J O: Bacteria-induced histamine release. Examination of the bacterial cell wall components peptidoglycan, teichoic acid and protein A, *Agents and Actions*, 16: 273~276, 1985
  - 20) 向井秀樹, 西岡 清, 野口俊彦, 藤本 進, 西山茂夫, 秋山 茂: 成人型アトピー性皮膚炎の細菌ワクチン注射による治療 (II) —作用機序—。日皮会誌 100: 495~501, 1990
  - 21) 中井賀子, 有馬八重野, 大津吉朗, 大槻雅子, 西野武志: ヒノキチオールのブドウ球菌属に対する抗菌作用について。第 41 回日本化学療法学会西日本支部総会, 1993 年 12 月 (神戸)

## Topical use of hinokitiol ointment in atopic dermatitis patients

—with special reference to colony count of *Staphylococcus aureus*  
on the surfaces of atopic dermatitis—

Hisanori Akiyama, Rikako Torigoe, Hiroko Kanzaki and Jirô Arata

Department of Dermatology, Okayama University Medical School,

2-5-1, Shikata-cho, Okayama 700, Japan

We used hinokitiol ointment in the treatment of various cutaneous manifestations of atopic dermatitis and counted the number of *Staphylococcus aureus* cells on the lesional skin surfaces before and after treatment. After the use of hinokitiol ointment the efficacy rate was 51.5% (17/33 cases) for the severity of skin lesions and 48.5% (16/33 cases) in itching. Minimum inhibitory concentrations (MICs) for hinokitiol against *S. aureus* showed a peak MIC distribution at 64  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , but the peak was shifted to 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  by adding  $\text{ZnCl}_2$  or  $\text{ZnO}$ . The addition of  $\text{ZnO}$  increased the bactericidal activity of hinokitiol against some strains of *S. aureus*. The mechanism of action of this agent is unknown, but may be related to its antistaphylococcal activity in some cases.