

【原著・基礎】

アトピー性皮膚炎患者から分離された黄色ブドウ球菌に対する
精製ツバキ油による増殖抑制作用秋元 義幸¹⁾・濱島 肇¹⁾・笹津 備規¹⁾・新井 武利¹⁾・村上富美子²⁾・溝口 昌子²⁾¹⁾ 昭和薬科大学微生物学研究室*²⁾ 聖マリアンナ医科大学皮膚科

(平成9年8月20日受付・平成9年11月11日受理)

アトピー性皮膚炎患部より分離された *Staphylococcus aureus* 14 株に対する精製ツバキ油による増殖抑制作用を検討した。14 株のうち半数以上の 9 株に精製ツバキ油による増殖抑制作用が認められた。分離株についてコアグラゼ型別、ファージ型別および薬剤感受性を調べ、精製ツバキ油による増殖抑制作用との関連性について考察した。増殖抑制作用とコアグラゼ型別およびファージ型別との関連性は明確ではなかった。薬剤感受性株の多くに増殖抑制作用が認められ、耐性株については抑制作用を受けない株が多く存在したことから薬剤感受性と精製ツバキ油による増殖抑制作用には何らかの関連性が予想される。

Key words: *Staphylococcus aureus*, atopic dermatitis, camellia oil, skin care, inhibitory effect

アトピー性皮膚炎患部からは高率に黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) が分離され、二次感染あるいは増悪因子と考えられている^{1,2)}。アトピー性皮膚炎のスキンケアに精製ツバキ油が用いられ有用であったと報告されている³⁻⁵⁾。そこで、脂肪酸およびオレイン酸を主成分とする各種植物油の *S. aureus* FDA 209 P に対する増殖への影響を経時的に測定した。その結果、Minimum effective concentration および ID 50などを指標に脂肪酸と比較することによりスキンケアに使用されている精製ツバキ油およびオリーブ油などの植物油には増殖抑制作用があることを明らかにした⁶⁾。

今回はアトピー性皮膚炎患部より分離された *S. aureus* に対する精製ツバキ油による増殖抑制作用について検討した。さらに精製ツバキ油による増殖抑制作用とコアグラゼ型別、ファージ型別および薬剤感受性との関連性について検討した。

I. 材料と方法

1) 使用菌株

実験に使用した *S. aureus* は 1995 年 5 月に聖マリアンナ医科大学皮膚科において、無作為に選ばれたアトピー性皮膚炎患者 20 名の皮膚病変部から分離を試み、*S. aureus* と同定された 14 株を用いた。なお、同一患者からは 1 菌株を分離した。

2) コアグラゼ型別およびファージ型別

S. aureus のコアグラゼ型別はブドウ球菌のコアグラゼ型別キット (デンカ生研) を用いて判定した。

ファージ型別の操作法および判定法は榎田らの報告

した MIC 2000 を用いた方法⁷⁾ により行った。国際標準型別ファージ液は大久保豊司博士 (群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設) より恵与された。

3) 薬剤感受性

日本化学療法学会標準法の寒天平板希釈法により MIC を測定した⁸⁾。実験に用いた抗菌剤は ampicilin (ABPC), oxacillin (MIPIC), cefazolin (CEZ), tetracycline (TC), gentamicin (GM), および erythromycin (EM) である。

4) 精製ツバキ油による *S. aureus* の増殖抑制作用

すでに報告した方法に準じて測定した⁶⁾。精製ツバキ油添加培地における各菌株の増殖が OD 1.0 に達したときの精製ツバキ油 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 存在下における OD 値とを比較し阻止率を計算し、増殖抑制作用 (inhibitory effect) として表した。

II. 結果

1) コアグラゼ型別およびファージ型別

実験に使用した 14 株のコアグラゼ型およびファージ型を Table 1 に示した。コアグラゼⅦ型が 14 株中 5 株であった。Ⅲ型およびⅤ型がそれぞれ 3 株および 2 株であった。Ⅳ型およびⅧ型はそれぞれ 1 株ずつであった。2 株 (OT 11 および OT 14) は型別不能であった。

ファージ型別はⅡ群が 5 株、Ⅲ群が 3 株であった。混合型はⅠ・Ⅲ群が 2 株、Ⅲ・Mis 群が 1 株であった。その他、雑群および NT (判定不能) 株がそれぞれ 1 株および 2 株であった。

Table 1. Coagulase types and phage types of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis

Strain	Coagulase type	Phage type
OT 1	VII	Mis.
OT 2	VII	II
OT 3	III	III
OT 4	IV	II
OT 5	VIII	III
OT 6	VII	NT
OT 8	VII	NT
OT 9	VII	I III
OT 11	NT	III
OT 14	III	II
OT 15	V	I III
OT 17	III	III · Mis.
OT 18	V	II
OT 19	NT	II

NT: Not typable

2) 薬剤感受性 (MIC)

実験に使用した各菌株の MIC 値を Table 2 に示した。ABPC の MIC については OT 9 が 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった他は $\leq 0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。GM の MIC については 2 株 (OT 3 および OT 5) が 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1 株 (OT 18) が 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 他は 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。EM については 2 株 (OT 14 および OT 17) が >400 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1 株 (OT 18) が 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり他は 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

MPIPC と CEZ の MIC は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ~ 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$

であり, TC については全株が 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と耐性株は認められなかった。

3) 精製ツバキ油による *S. aureus* の増殖に対する影響

薬剤感受性株 (8 株) および耐性株 (6 株) の増殖曲線をそれぞれ Fig. 1 および Fig. 2 に示した。inhibitory effect がそれぞれ 93.4 % および 82.5 % とかなり強く, 増殖抑制を受けた株は OT 3 および OT 17 であった。45.7 % ~ 57.2 % の inhibitory effect を示したのは薬剤感受性の 8 株中 7 株 (OT 1, OT 2, OT 4, OT 6, OT 11, OT 15 および OT 19) であった (Table 1)。OT 8, OT 9 および OT 18 株の inhibitory effect はそれぞれ 1.1 %, 29.1 % および 16.4 % と計算されたが, Fig. 1 および Fig. 2 に示されるような増殖曲線から inhibitory effect の 40 % 未満は増殖抑制作用はないと判定した。OT 5 および OT 14 にも抑制作用が認められず, 逆に精製ツバキ油により増殖が促進された (Fig. 2)。

III. 考 察

アトピー性皮膚炎患部に由来する *S. aureus* について精製ツバキ油の 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 存在下における増殖抑制作用を inhibitory effect により比較した。用いた 14 株のうち半数以上の 9 株には精製ツバキ油による増殖抑制作用が認められた。前報で *S. aureus* FDA 209 P を用いて脂肪酸および植物油による増殖抑制作用を測定しており, 精製ツバキ油 (40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の *S. aureus* FDA 209 P に対する inhibitory effect は 52.9 % であった。今回の結果から, 精製ツバキ油により *S. aureus* FDA 209 P よりも強く増殖を抑制された株が 9 株, まった

Table 2. Drug susceptibility and inhibitory effects of purified camellia oil on *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis

Strain	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)						Inhibitory effect (%) ^{a)}
	ABPC	MPIPC	CEZ	TC	GM	EM	
OT 1	3.13	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	45.7
OT 2	0.2	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	54.3
OT 3	3.13	0.39	0.39	0.78	50	0.78	93.9
OT 4	6.25	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	53.7
OT 5	0.39	0.39	0.39	0.78	50	0.78	NI ^{b)}
OT 6	0.2	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	46.3
OT 8	0.2	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	NI
OT 9	25	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78	NI
OT 11	≤ 0.05	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	57.2
OT 14	≤ 0.05	0.39	0.39	0.78	0.78	>400	NI
OT 15	3.13	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	47.5
OT 17	3.13	0.39	0.39	0.78	0.78	>400	82.5
OT 18	0.78	0.39	0.39	0.78	200	50	NI
OT 19	3.13	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	61.6

^{a)} Inhibitory effects were calculated from the growth curve. ^{b)} NI; Not inhibitory at concentration tested.

ABPC: ampicillin, MPIPC: oxacillin, CEZ: cefazolin, TC: tetracycline, GM: gentamicin, EM: erythromycin

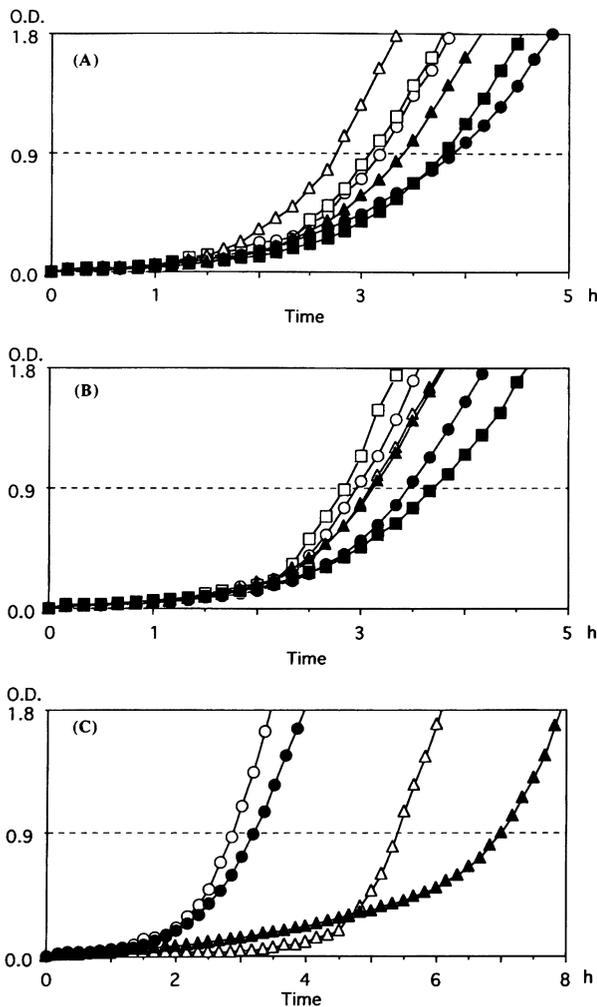


Fig. 1. Inhibitory effects of purified camellia oil on the growth of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis.

S. aureus was inoculated into broth medium containing no oil (open symbols) or broth medium containing 40 µg of purified camellia oil per ml (closed symbols). (A), *S. aureus* OT 1 (○, ●), OT 2 (△, ▲), OT 4 (□, ■); (B), *S. aureus* OT 6 (○, ●), OT 8 (△, ▲), OT 11 (□, ■); (C), *S. aureus* OT 15 (○, ●), OT 19 (△, ▲)

く影響されない株が 3 株、さらに逆に増殖が促進された株が 2 株存在していた。これらのことは、アトピー性皮膚炎患者には患者によってコアグラゼ型別、ファージ型別および薬剤感受性の他に精製ツバキ油に対する感受性のまったく異なる株が存在していることを示している。したがって、精製ツバキ油がアトピー性皮膚炎患者に有用であった例³⁻⁵⁾については精製ツバキ油によって *S. aureus* の増殖を抑制できた株が存在していた可能性が示唆される。

アトピー性皮膚炎患者より分離された多数の *S. aureus* の薬剤感受性およびコアグラゼ型別については神崎ら¹¹⁾の詳細な報告がある。彼らは 1993~1995 年に分離された株についてはコアグラゼ型 III, VII 型が多いことを報告している。またファージ型別につい

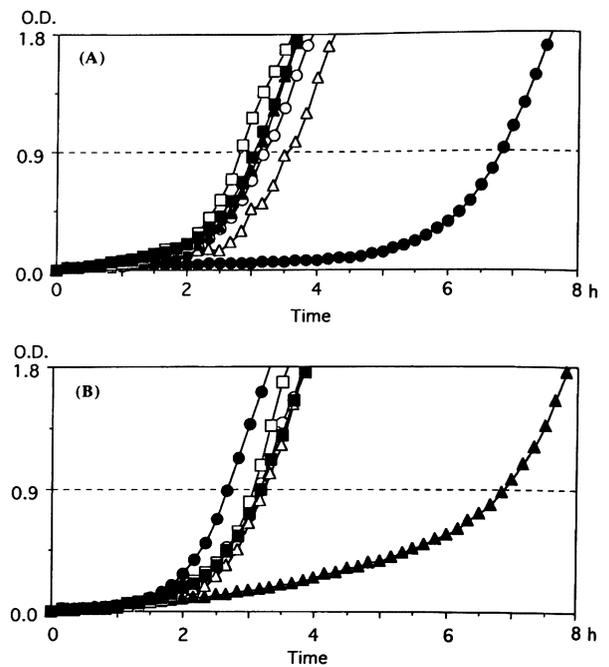


Fig. 2. Inhibitory effects of purified camellia oil on the growth of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis.

The procedure was the same as described in the legend for Fig. 1. (A), *S. aureus* OT 3 (○, ●), OT 5 (△, ▲), OT 9 (□, ■); (B), *S. aureus* OT 14 (○, ●), OT 17 (△, ▲), OT 18 (□, ■)

ては 1994 年に平田らが詳細に検討し、III 型が多いことを報告している¹²⁾。今回測定した菌株では、コアグラゼ型は 14 株中 5 株が VII 型、ファージ型別は II 群が 5 株、III 群が 3 株とすでに報告されている結果と同様の傾向を示した。

このためアトピー性皮膚炎患者に由来する *S. aureus* のコアグラゼ型別、ファージ型別および薬剤感受性について、精製ツバキ油による増殖抑制作用との関連性について検討した。コアグラゼ型別とファージ型別には関連性は認められなかった。これはファージ型別標準ファージはコアグラゼ型別とは関係なく分類されているためと考えられる。またファージ型別と精製ツバキ油による増殖抑制作用との関連性もないと思われた。

次に増殖抑制作用とコアグラゼ型別との関連性について検討した。40% 以上の inhibitory effect が確認された菌株のコアグラゼ型別は III, IV, V, VII 型、および型別不能株であった。しかし、コアグラゼ型別の III, V, VII および VIII 型においても増殖抑制作用が確認できない菌株があり、増殖抑制作用とコアグラゼ型別には関連性は明確ではなかった。

さらに薬剤感受性と精製ツバキ油による増殖抑制作用との関連性について検討した。感受性の 8 株中 7 株 (OT 1, OT 2, OT 4, OT 6, OT 11, OT 15 および OT 19) には精製ツバキ油により 46.3~61.6% の

inhibitory effect が認められた。しかし、OT 8 は測定した薬剤に対しては感受性菌ではあったが精製ツバキ油による増殖抑制作用がまったく認められなかった。以上のように薬剤感受性株の多くには増殖抑制作用が認められたが、精製ツバキ油の作用を受けない株も存在した。このように感受性菌に対して精製ツバキ油は増殖抑制作用を示すことが明らかになった。増殖抑制作用が認められなかった 1 株においては、今回測定しなかった他の薬剤に対して耐性を示す可能性がある。一方、測定したいずれかの薬剤に対して耐性を示した 6 株中 4 株には増殖抑制作用が認められなかった。しかし、残りの 2 株、すなわち GM 耐性の OT 3 および EM 耐性の OT 17 については inhibitory effect がそれぞれ 93.9% および 82.5% と強い増殖抑制作用が認められた。このように強い抑制作用が見られた例もあるが、何らかの薬剤に耐性を示す株には作用しないように思われた。OT 3 と OT 17 株に対する強い抑制作用についてはさらに詳細な検討が必要であると思われる。

以上のように分類に当てはまらない株も存在するが、調べたかぎりでは薬剤感受性と精製ツバキ油による増殖抑制作用には何らかの関連性が予想される。このような結果は精製ツバキ油を含む植物油による増殖抑制作用機構の解明に役立つと思われ、さらに多数の菌株について詳細な検討をしていく必要がある。

精製ツバキ油により逆に増殖が促進された OT 5 および OT 14 株についてはさらに 20 および 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の精製ツバキ油による影響について調べた。実験結果を示さないが、いずれの濃度によっても増殖が促進され、両株とも濃度に依存して増殖が促進された。精製ツバキ油の存在下、これらの株の増殖が促進されたのは他の株より高い脂質分解性によるものではないかと考え、すべての株について 1% Tween 80 含有寒天培地¹²⁾ における脂質分解性を検討した。しかし、脂質分解性の菌株による明瞭な差は認められなかった。このため精製ツバキ油による抑制作用と脂質分解性の強さとの関連性は認められず、精製ツバキ油により逆に増殖が促進された理由については不明である。したがって、患者によってはスキンケアに用いられる精製ツバキ油あるいはオリーブ油の使用は患部の菌株を増加させる恐れもある。我々は脂肪酸および植物油の *S. aureus* に対する増殖抑制作用を検出するために、今回用いた実験方法では試料の培地への溶解性から測定可能な濃度が 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下と限られることを報告している⁶⁾。このため精製ツバキ油のより高濃度領域での *S. aureus* に対して増殖抑制作用あるいは促進作用の可能性については検討していない。しかし、実際には精製ツバキ油は希釈して使われることはなく、保湿効果を期待してのスキンケアとして用いられるので使用上の

問題点はないものと考えられるが、黄色ブドウ球菌に対する抑制作用がアトピー性皮膚炎患部において認められるか否かさらに検討が必要である。

今回、アトピー性皮膚炎患部からは MPIPc 耐性株は分離されなかったため methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) について検討していない。今後、MRSA を含めたアトピー性皮膚炎患部由来の *S. aureus* に対する脂肪酸および植物油による増殖抑制作用についても測定し、作用機構を検討していく予定である。

謝 辞

ファージ型別試験に用いた国際標準ファージを御供与いただいた群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設大久保豊司博士に感謝の意を表します。

この論文は第 43 回日本化学療法学会東日本総会において発表し、編集委員会より学会誌に投稿するよう推薦を受けたものである。

文 献

- 1) 秋山尚範, 下江敬生, 多田譲治, 他: 皮膚病変部における *Staphylococcus aureus* の検出について。日本皮膚科学会雑誌 103: 1315~1322, 1993
- 2) 秋山尚範, 多田譲治, 鳥越利加子, 他: 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。日本皮膚科学会雑誌 104: 1249~1257, 1994
- 3) 溝口昌子, 竹島 真: 精製ツバキ油による湿疹・皮膚炎の治療成績。西日本皮膚科 50: 119~125, 1988
- 4) 斉藤胤暎: アトピー性皮膚炎への精製ツバキ油の応用。新薬と臨床 38: 1327~1331, 1989
- 5) 飯塚万利子, 伊崎誠一, 北村啓次郎: アトピー性皮膚炎ならびに乾皮症に対する精製ツバキ油の効果。日本小児皮膚科学雑誌 11: 153~158, 1992
- 6) 新井武利, 濱島 肇, 笹津備規: 脂肪酸, 精製ツバキ油およびオリーブ油の黄色ブドウ球菌に対する増殖抑制作用について。日本化学療法学会誌 44: 786~791, 1996
- 7) 榎田隆一, 遠藤美代子, 奥野ルミ, 他: 微量液体希釈法の薬剤感受性システム MIC 2000 による黄色ブドウ球菌のファージ型別の試み。第 76 回日本細菌学会関東支部総会講演抄録集, 東京, p 36, 1996
- 8) 大久保豊司: ファージ型別 *Staphylococcus aureus*。臨床と微生物 23: 713~715, 1996
- 9) Japan Society of Chemotherapy, Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 10) 神崎寛子, 上枝万純, 森下圭子, 他: 皮膚感染症およびアトピー性皮膚炎由来の黄色ブドウ球菌の抗菌薬感受性とコアグラゼ型別について。日本化学療法学会誌 44: 741~745, 1996
- 11) 平田雅子, 坂崎由朗, 宮野径彰, 他: アトピー性皮膚炎における黄色ブドウ球菌。日本皮膚科学会雑誌 104: 1353~1359, 1994
- 12) Barrow G I, Feltham R K A: 培地の調整および精度管理。Cowan and Steel's 医学細菌同定の手引き 第 3 版 (坂崎利一 監訳), p.237, 近代出版, 東京, 1993

The inhibitory effect of camellia oil on the growth of *Staphylococcus aureus*
isolated from patients with atopic dermatitis

Yoshiyuki Akimoto¹⁾, Hajime Hamashima¹⁾, Masanori Sasatsu¹⁾, Taketoshi Arai¹⁾,
Fumiko Murakami²⁾ and Masako Mizoguchi²⁾

¹⁾ Department of Microbiology, Showa College of Pharmaceutical Sciences, Machida, Tokyo 194, Japan

²⁾ Department of Dermatology, St. Marianna University School of Medicine

The *in vitro* inhibitory effect of purified camellia oil was tested with 14 *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with atopic dermatitis by the method previously reported. Purified camellia oil was demonstrated to have a potent inhibitory effect on the growth of 7 of 8 drug-sensitive strains and 2 of 6 drug-resistant strains with 45.7% to 93.9% inhibition. There was no inhibition of one sensitive strain and 2 drug-resistant strains. However, growth of these 2 drug-resistant strains was accelerated by addition of purified camellia oil. No significant relationship was observed between the inhibitory effect of purified camellia oil and coagulase type or phage type. These findings suggest that the inhibitory effect of purified camellia oil may explain the susceptibility of *S. aureus* to drugs. Further studies are required to establish whether these inhibitory effects play a role *in vivo*.