

感光色素によるモニリヤ症治療に関する 基礎的並に臨床的研究

第 1 編

感光色素の構造式と抗 Candida 作用との関連性並に感光色素 NK 91号の Candida albicans に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

専攻生 山口 義雄

[昭和 31 年 5 月 31 日受稿]

内 容 目 次

第 1 章 緒 論

第 2 章 感光色素の構造式と抗 Candida 作用との関連性

第 1 節 実験材料並に実験方法

第 2 節 実験成績

第 1 項 血清無添加培地上実験

第 2 項 血清添加培地上実験

第 3 章 感光色素 NK 91 号の Candida

albicans に及ぼす影響

第 1 節 実験材料並に実験方法

第 2 節 実験成績

第 1 項 形態に及ぼす影響

第 2 項 培地 pH に及ぼす影響

第 3 項 菌呼吸に及ぼす影響

第 4 章 総括並に考按

第 5 章 結論

第 1 章 緒 論

1839年 Langenbeck¹³⁵⁾により驚口瘡の病原菌が Candida albicans (以下 C. alb. と略す) であることが証明され、内科領域に於ては 1905年 Castellani¹¹⁶⁾ が所謂 tea-taster's cough 患者の喀痰中に同菌を検出し、動物実験により診断を確定したモニリヤ症の報告が最初のものである。その後呼吸器、消化器及び汎発性モニリヤ症等多数の症例が相次いで発表され、本症の複雑多彩なる諸病態は漸次闡明されてきた観がある。然るにその治療に眼を転ずるに諸説の帰一する所なく、吾人はその選択に暗中模索の状態である。治療剤には古来より種々の色素類を中心として諸薬剤が使用され多少の効果ありとは云え、尚極めて不充分である。

茲に於て私は更により強力なる化学療法剤を見出さんとして感光色素を選んだ。本剤は

既に 1856年 Williams によつて始めて Cyanin 系感光色素が合成され、優秀なる感光増進剤たることが確認され、写真乾板の増感色素として誕生したのが始めである。以来多種多様の感光色素が陸續として発見され、今日では数千種類に及んでいる。而して之等多数の色素の用途に関しては単に写真用のみでなく、医学研究の進歩と共に近時この方面にも応用されるに至り数多の業績が発表されており、臨床方面でも虚弱体質の改善或は貧血症、気管支喘息、その他アレルギー疾患、神経痛、結核性淋巴腺炎、癲病、化膿性疾患、湿疹、白癬、熱傷、凍傷の治療等枚挙に遑がない。ここに本剤の抗菌性に関する文献を緝げば、1920年 Neufeld 等¹⁴⁹⁾ は Cyanin 系感光色素による抗菌性に関する実験的研究を行い、化学療法剤として本剤が斯界に発展する事を示唆した。果して 1932年 Browning 等¹¹³⁾ は Styryl 型、Anil 型色素の強力な抗トリパノゾ

一マ作用を認め、更に血清添加によりその効力の減退を認めない事を明らかにし、特に感光色素 245 号は著明な抗菌力を有し病原体を染色し、然も比較的予防効果も強力にして1ヶ年以上に及び、ゲルマニン以上の効果があると発表した。本邦に於ても波多野^{72)・78)}は尾形¹⁹⁾の協力を得て1934年以来広義の化学療法立場から感光色素による疾病の治療と予防に不断の努力を続けた。この頃より池松³⁾、落合²⁶⁾、横井¹⁰⁹⁾、宮崎¹⁰¹⁾、箕田¹⁰⁰⁾等、外国では Brooker¹¹²⁾、Wright¹⁷¹⁾、Peter¹⁵⁴⁾、Bueding¹¹⁵⁾等が種を接して各種細菌及び原虫に対する抗菌性の検索を行つた。最近村上教授及びその門下^{102)・106)}は系統的に各種感光色素の抗菌性を実験し、一応その目的を完成したと云つても過言ではないようである。以上は一般細菌及び原虫に対する研究であるが、近時ビールスに対してもその応用研究がなされ、波多野等⁷⁸⁾は実験的の日本脳炎マウスにプラトニンを投与し発病及び死亡期日の延長を認めている。

然るに真菌類分野に関する研究は殆んどなく僅に横井¹⁰⁹⁾、鈴木⁵⁰⁾、占部及び楢垣^{9)・11)}等の報告があるが、之等は断片的な基礎実験に過ぎず、系統的且臨床的研究の業績は殆んど見るべきものがない。私は感光色素のモニリヤ症に対する治療効果について、基礎的並に臨床的実験を行い、聊か新知見を得たので茲にその成績を報告する次第である。

第2章 感光色素の構造式と抗 Candida 作用との関連性

各種感光色素の化学構造式と *C. alb.* の発育阻止との間に何等かの関連性が存するや否やについて、類似構造を有するもの数種類宛 22群に分類し、更に各色素を種々の濃度に分ち、夫々について時間の経過に従つて観察した。又本実験に於ては発育阻止力の強い十余種の感光色素について、血清添加による阻止力の増減を併せて観察した。

第1節 実験材料並に実験方法

(1) 供試菌株 本実験に使用した菌株は

1953年当教室入院患者(肺モニリヤ症)の喀痰中より分離、固定した *C. alb.* 谷本株である。以下諸実験は総て本菌株によつて行い、実験に際しては 37°C、48時間培養により、発育最も旺盛なるものを用意した。

(2) 供試感光色素：色素は日本感光色素研究所に於て合成し、分析検定によつて構造式を再確認した精製品のみ 109種類を使用した。実験前後を通じ日光直射による色素の変質を避けるため遮光その他適当なる処置について特に留意した。

(3) 培地作製法：培地はサブローブドウ糖寒天培地(粗製マルトーゼ 40g、ペプトン 10g、寒天 20g、蒸溜水 100cc)を用いた。色素は蒸溜水を以て溶解するを原則としたが、一部比較的難溶性色素はメタノールによつて完全溶解の上、次の濃度の如く稀釈し煮沸滅菌を行つた。即ち煮沸溶解せる培地 1cc に対し色素液 0.5, 1.0, 5.0, 10.0r の割合に混入後、滅菌シャーレ内に 20cc 宛分注し充分振盪混和した。而る後暫く室温に放置し、完全に冷却凝固した固形培地を作製した。又血清添加培地は無菌的に採取した家兎血清を 10% 含有する如く調製した。

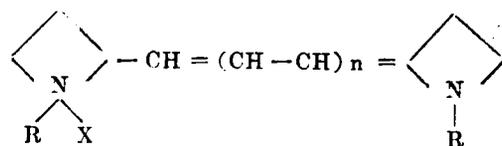
(4) 実験方法：菌株より 1白金耳を掻き取り、之をサブローブイオン 10cc 中に混和し均等なる菌浮遊液を作り、更にその 1白金耳を前述培地の表面に塗抹接種した。

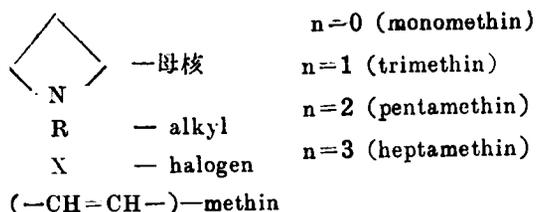
(5) 判定法：37°C 孵卵器中に於て 12, 24, 47, 72時間後菌集落の数の多少及び直径の大小を、色素無添加の対照と比較判定した。尚一部のメタノールを以て溶解した色素については、同率に混合した対照によつて判定した。

第2節 実験成績

第1項 血清無添加培地上実験

添付の実験成績表の感光色素化学構造式は、便宜上一般式を下記の如く表示した。





成績欄に於ては 5~10 γ /cc 24時間後発育完全阻止を(+), 5 γ /cc では 24時間後発育不完全阻止にして 10 γ /cc 24時間後完全阻止を(±), 10 γ /cc 24時間後発育阻止作用を全く認めない場合を(-)とした。

(1) Monomethin 色素に於ては NK88 の thiocyanin は無効であるが, 4-4'-chinocyanin では NK 6 の R=C₂H₅基及び NK 33 の R=CH₃基色素共に第1表に示す如く稍々有効であつた。

第1表 Monomethincyanin 型色素

N.K.Nö	R	X	A B	成績
6	C ₂ H ₅	J		(±)
33	CH ₃	J		(±)
88	C ₂ H ₅	J		(-)

(2) Trimethin 色素に於ては 2-2'-chinocyanin 色素類 4 種は第2表に示す如く何れも稍々有効であり, halogen 基等の置換による効力の差異は認められない。

第2表 Trimethin 2-2'-chinocyanin 型色素

N.K.Nö	R	X	成績
3	C ₂ H ₅	J	(±)
21	C ₂ H ₅	Br	(±)
22	C ₂ H ₅	Cl	(±)
23	C ₂ H ₅	ClO ₄	(±)
64	C ₂ H ₅	J	(±)

(3) 4-4'-chinocyanin 色素に於ては第3表の如く NK 5 及び 60 の R=CH₃ 基及び R=n-C₄H₉ 基の色素が稍々有効であるが, ethyl 基及び isopropyl 基色素は無効である。

第3表 Trimethin 4-4'-chinocyanin 型色素

N.K.Nö	R	X	成績
5	C ₂ H ₅	J	(-)
14	CH ₃	J	(±)
44	n-C ₄ H ₉	J	(±)
60	i-C ₃ H ₇	J	(-)

(4) Thiazolocyanin 色素に於ては alkyl, halogen 及び酸基の置換による効力の増強は認められず, 第4表の如く無効である。

第4表 Trimethinthiazolocyanin 型色素

N.K.Nö	R	X	成績
67	C ₂ H ₅	J	(-)
165	n-C ₃ H ₇	J	(-)
389	CH ₃		(-)
442	CH ₃		(-)

(5) Mesotrimethinthiocyanin 色素に於ては NK76 の整形 trimethin 色素及び NK 77 の Mesomethyltrimethin 色素及び NK94 の Mesoparadimethyl-aminophenylvinyl-trimethin 置換色素を比較したが, 何れも第5表の如く無効である。

第5表 Mesotrimethincyanin 型色素

N.K.Nö	R	X	Y	成績
76	C ₂ H ₅	J	H	(-)
77	C ₂ H ₅	J	CH ₃	(-)
94	C ₂ H ₅	J	CH:CH-	(-)

(6) 混合型Cyanin 色素に於ては第6表の如く全く無効である。

第6表 混合型 Trimethincyanin 型色素

N.K.No	R	X			R'	成績
191	CH ₃	J			π -C ₇ H ₁₅	(-)
304	C ₂ H ₅	J			π -C ₇ H ₁₅	(-)

(7) Indocyanin, Oxycocyanin 色素等其他の Trimethin 色素に於ても第7表の如く無効である。

第7表 その他の Trimethincyanin 型色素

N.K.No	R	X		Y	成績
86	CH ₃	J		H	(-)
354	CH ₃	Cl		H	(-)
390	CH ₃			H	(-)
419	CH ₃			H	(-)

(8) Pentamethincyanin 色素 13 種に於ては第8表の如く、NK 74 の 1-1'-diethylmeso-

第8表 Meso-Cl (Br) pentamethincyanin 型色素

N.K.No	R	X		Y	成績
74	C ₂ H ₅	J		Cl	(+)
75	C ₂ H ₅	J		Br	(-)
83	CH ₃	J		Br	(-)
101	C ₂ H ₅	J		Cl	(-)
105	CH ₃	J		Br	(-)
193	C ₂ H ₅	Cl		Cl	(+)
215	π -C ₇ H ₁₅	J		Cl	(-)
218	π -C ₇ H ₁₅	J		Cl	(-)
260	π -C ₈ H ₁₇	J		Br	(-)
261	π -C ₈ H ₁₇	J		Cl	(-)
379	C ₂ H ₅	J		Cl	(-)
435	C ₂ H ₅	J		Cl	(-)
463	C ₂ H ₅	J		Cl	(-)

Cl-pentamethinthiocyaninjodid 及び NK 193 の Cl 置換色素は有効であるが、alkyl 基を n-C₇H₁₅ 及び n-C₄H₉ 基に置換すると無効になり、又 Meso-Br-pentamethin 色素にしても無効となる。更に母核の 5 位に methoxy 基が入ると減弱されて無効となる。Indocyanin 2-2'-chinocyanin 及び 4-4'-chinocyanin, Thiazolocyanin 及び α -naphthothiazolocyanin は何れも無効である。

(9) Heptamethin 色素に於ては第9表の如く無効である。

第9表 Heptamethincyanin 型色素

N.K.No	R	X		成績
125	CH ₃	J		(-)
126	C ₂ H ₅	J		(-)

(10) 三核型色素に於ては虹波及び誘導体色素 (第10表), 紫光誘導体色素並に 5-carbonacid-ethyl-4-methylthiazol 核色素 (第12表) は何れも無効である。

表10表 三核型 chino-4-4'-cyanin 型色素

N.K.No	R	X	成績
4	C ₂ H ₅	J	(-)
8	C ₂ H ₅	Br	(-)
30	i-C ₃ H ₇	Br	(-)

第11表 三核型 thiazolocyanin 型色素 (I)

N.k.No	R	X	成績
19	π -C ₇ H ₁₅	J	(-)
54	π -C ₇ H ₁₅	Br	(-)
55	π -C ₇ H ₁₅	ClO ₄	(-)
393	π -C ₈ H ₁₇	J	(-)

第12表 三核型 thiazolocyanin 型色素(II)

NKNö	R	X		成績
34	CH ₃	J		(-)
35	C ₂ H ₅	J		(-)

(11) Styril 型及び誘導体色素32種に於ては第13表の如く paraoxy-meta-methoxystyryl 型は色素は無効であるが, paradimethylaminostyryl 型色素は thiazol 核, pyridin 核を除いては何れも有効か又は稍々有効であり, 本項実験に於ては各種色素型中最も優秀な成績を示した. NK436 の halogen を paraoxy-salicyl 酸基に置換した NK469 も有効であり, NK342 の halogen を paraoxysalicyl 酸基及び salicyl 酸基に置換した NK438 及び 470 は効力が増強され有効である. Styryl 型色素の methin 鎖の増長による影響を検するに, thiazol 核色素 NK336 は増強され有効であるが, NK375, 376は同等の成績を示した. 色素中 2 個の para-dimethylaminostyryl 基を有する NK340 は, 効力が強化され有効である.

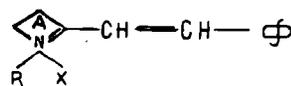
(12) Styryl 型色素の β 位の methin を窒素に置換したAnil型色素は第14表の如く, 効力の低下を来し無効である (第13表 NK 91 と第14表 NK 498 を比較).

第14表 Anil 型色素

N.K.No	R	X		φ	成績
22B	n-C ₇ H ₁₅	J			(-)
498	C ₂ H ₅	"		"	(-)

(13) Anilincyanin 色素(第15表), phenylacetylaminovinyl 色素 (第16表), paramethoxyphenylaminovinyl 色素 (第17表), para-methoxyphenylacetylaminovinyl 色素(第18表), para-oxypheylaminovinyl 色素(第

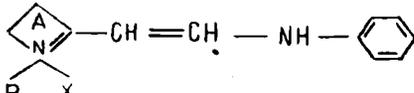
第13表 Styryl 型色素



N.K.No	R	X		φ	成績
90	CH ₃	J			(-)
91	C ₂ H ₅	J		"	(+)
92	"	"		"	(±)
96	"	"		"	(±)
99	CH ₃	"		"	(-)
143	n-C ₇ H ₁₅	"		"	(-)
267	n-C ₃ H ₇	"		"	(-)
270	n-C ₄ H ₉	"	"	"	(-)
271	l-C ₅ H ₁₁	"	"	"	(-)
294	n-C ₈ H ₁₇	"	"	"	(-)
298	n-C ₁₂ H ₂₅	"	"	"	(-)
311	n-C ₇ H ₁₅	"		"	(-)
340	"	"		2()	(+)
342	C ₂ H ₅	"			(±)
350	C ₇ H ₁₅	"			(-)
359	CH ₃	"			(-)
366	C ₄ H ₉	Br		-CH=CH-	(+)
367	CH ₃			"	(-)
375	C ₂ H ₅	J		"	(+)
376	"	"		"	(±)
395	C ₉ H ₁₉	"			(-)
402	C ₈ H ₁₇	"		-CH=CH-	(-)
404	C ₉ H ₁₉	"	"	"	(-)
405	C ₁₂ H ₂₅	"	"	"	(-)
409	"	"		"	(-)
431	CH ₃		"	"	(-)
436	C ₂ H ₅	J			(+)
458	"	"		"	(+)
461	"	"		"	(+)
468	"			"	(+)
469	"	"		"	(+)
470	"			"	(+)

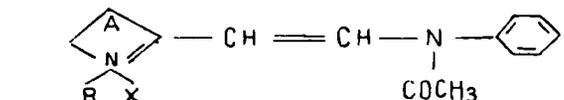
19表), 5-Br-Pyridilaminovinyl 色素 (第20表) 及び hexamethin 色素 (第21及び22表) は何れも無効である.

第15表 Anilino-vinylcyanin 型色素



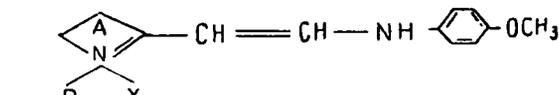
N.K.No	R	X		成績
116	C ₂ H ₅	J		(-)
122	π -C ₇ H ₁₅	"		(-)
345	CH ₃			(-)
362	"	J		(-)
445	"			(-)
450	"			(-)

第16表 Phenylacetylaminovinyl 型色素



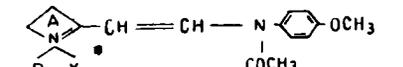
N.K.No	R	X		成績
129	C ₂ H ₅	J		(-)
132	"	"		(-)
146	CH ₃	"		(-)
187	π -C ₇ H ₁₅	"		(-)

第17表 Para-methoxyphenylaminovinyl 型色素



N.K.No	R	X		成績
247	CH ₃	J		(-)
343	"	"		(-)

第18表 Para-methoxyphenylaminovinyl 型色素

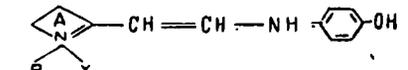


N.K.No	R	X		成績
252	CH ₃	J		(-)
254	π -C ₇ H ₁₅	"		(-)

第2項 血清添加培地上実験

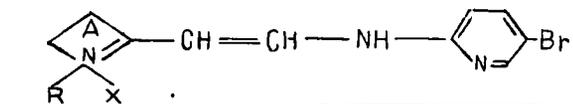
培地に10%家兎血清を添加した場合の抗Candida作用について、第1項の成績中57/100 24時間後発育完全阻止を示した12種の感光色

第19表 Para-oxyphenylaminovinyl 型色素



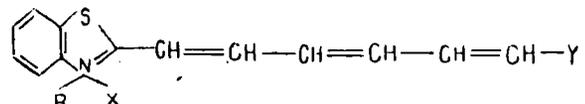
N.K.No	R	X		成績
256	C ₂ H ₅	J		(-)
257	"	"		(-)

第20表 5-Br-Pyridilaminovinyl 型色素



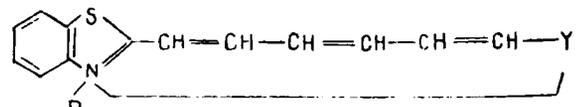
N.K.No	R	X		成績
243	C ₂ H ₅	J		(-)
344	C ₇ H ₁₅	"		(-)
372	C ₂ H ₅	"		(-)
430	CH ₃			(-)
432	C ₂ H ₅	J		(-)
434	"	"		(-)

第21表 Hexamethin 型色素 (I)



N.K.No	R	X	Y	成績
351	C ₂ H ₅	J		(-)
439	"	"		(-)

第22表 Hexamethin 型色素 (II)



N.K.No	R	Y	成績
413	C ₂ H ₅		(-)
425	"		(-)

素について行つた。第23表の如く発育阻止作用の増強を来す感光色素は全然認めず、総て或る程度効力の減退を来した。その中著明な減退を見るものはNK193, 340, 436であり、中等度の減退を来すものはNK366, 375,

第23表 血清添加培地上に於ける実験成績

N. K.	γ/cc	血清添加			無添加		
		1日	2日	3日	1日	2日	3日
74	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	+
	10.0	-	-	±	-	-	-
91	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	-	±	+	-	-	-
	10.0	-	-	±	-	-	-
193	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	+	+	+	±	+	+
	10.0	±	+	+	-	-	±
340	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	+	+	+	-	±	+
	10.0	±	+	+	-	-	±
366	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	±
	10.0	-	±	+	-	-	-
375	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	±
	10.0	-	±	+	-	-	-
436	0.5	+	+	+	±	+	+
	1.0	+	+	+	±	+	+
	5.0	+	+	+	-	+	+
	10.0	±	+	+	-	-	-
458	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	±
	10.5	-	±	+	-	-	-
461	0.5	+	+	+	±	+	+
	1.0	+	+	+	±	+	+
	5.0	+	+	+	-	-	-
	10.0	-	±	+	-	-	-
468	0.5	+	+	+	±	+	+
	1.0	+	+	+	-	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	+
	10.0	-	±	+	-	-	±

469	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	-	+	+
	5.0	±	+	+	-	-	-
	10.0	-	±	+	-	-	-
470	0.5	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	±	+	+
	5.0	±	+	+	-	±	+
	10.0	-	±	+	-	-	+
色素無添加(対照)		+	+	+	+	+	+

註 一 発育完全阻止
 ± 色素無添加12時間と同程度発育
 + " 24 " "
 + " 48 " "
 + " 72 " "

458, 461, 468, 469 及び 470 である。比較的減弱程度の少いのが NK74 及び 91 であり、特に後者は最も強い抗 Candida 作用を示している。

第3章 感光色素 NK91 の C. alb. に及ぼす影響

前章の実験により感光色素 NK 91 号 (以下 NK 91 と略す) が試験管内に於て C. alb. 谷本株に対し著明な発育阻止作用ある事を認め、又血清添加の場合にも比較的抗菌性の低下を来さない事が判明した。本章に於ては、之は如何なる作用機序によるものかを解明せんとして実験を試みた。尚 NK 91 は融分解点 245°C, 吸収極大 435μ にして水又はアルコールに容易に溶解し、赤色を呈する暗赤褐色の粉末状感光色素である。

第1節 実験材料並に実験方法

(1) 形態に及ぼす影響: NK 91 を 1, 10, 100γ/cc 宛含有するサブロー葡萄糖ブイヨン 10cc に 1 白金耳の C. alb. を入れ、37°C の孵卵器におさめ、3, 6, 12, 24, 48, 72時間後取り出し、軽く振盪し試験管底に沈澱した菌を均等な浮游液とし、メスピペットを以てその 1 滴を清浄なオブエクトグラス上に落し、その形態の変化をレフルル染色によつて観察した。

(2) 培地 pH に及ぼす影響: サブロー荷

葡萄糖ブイヨン 10cc に先ず 10mg の *C. alb.* を入れ、軽く振盪し均等なる菌浮游液を作り、メスピペットを以つて 3 滴宛別に用意した各種濃度の NK 91 を含有する 10cc のサブロー葡萄糖ブイヨンに滴下し、ゴムキャップを被せ 37° C 孵卵器内に收め時間の経過を追つて遠心分離器にかけ、その上清について島津ガラス電極 pH メータを用いてその pH を測定した。

(3) *C. alb.* の呼吸に及ぼす影響：休止期の菌呼吸はワールブルグ検圧計を用い旧法によつて測定した。*C. alb.* をリングル氏液によつて洗滌し血球計算用メランジュールを用いて 1mm³ につき 1 万個の菌数を有する菌浮游液を作り、これをメスピペットを用いてボトル主室内に 2.5cc を注入した。別にリングル氏液 0.5cc 中に NK 91 を各種濃度に溶解し前記浮游液中に注加した。副室内には 10% KOH を 0.3cc 流入した。水槽内温度 38° C、環境は空気とし、前振盪 15 分後括栓を閉じ測定を開始した。尚振盪回数毎分 100 回として実験を行つた。又活動期の菌呼吸測定は前記リングル氏液の代りにサブローブイヨンを使用し、菌量は 1mm³ につき 4 万個とし其他の条件は前述同様に行つた。

第 2 節 実験成績

第 1 項 形態に及ぼす影響

C. alb. のサブローブイヨン内に於ける普通の形態は酵母様円形乃至楕円形の直径 3~6 μ の壁の薄い細胞として見られ、単独或は葡萄状に集合した状態として認められる。又増殖形である出芽形態も屢々見られる。時に擬似菌糸を生ずるが、この場合は各節の接着部が細くくびれ、長楕円形の細胞が集合し恰も樹枝状を呈する複雑なるものから、数個の細胞の連鎖状に過ぎない簡單なるものまである。巨大孢子、真正菌糸等は特定の培養条件下に生じ、サブローブイヨン内には見られない。

(1) 1r/cc 添加 3 時間後では大部分の細胞は円形であり、極少数の楕円形細胞が見られ大小不同及び出芽形細胞が著明である。染色性は鮮明なる濃青染である。6 時間後には

円形細胞が少々減少し、楕円形細胞は多少増加を来し大小不同及び出芽形は減少傾向が見られる。少数の擬似菌糸が出現し、総菌数は大なる変化を見ない。菌体内に斑紋状の染色性の不良なる部分が見られ、少々淡青色に染色される細胞が少数存在する。12 時間後には楕円又は卵円形細胞は 6 時間後の場合と略々同様であるが、大小不同出芽形細胞は少々増加を示し、総菌数も僅か増加し、染色性は極く一部の細胞に斑紋状の不染色部分が見られるものがある。24 時間後には殆んど円形細胞によつて占められ、大小不同出芽形細胞は著明に増加し擬似菌糸は認められない。染色性は鮮明な濃青を示す。48 時間及び 72 時間では円形細胞が極めて多く擬似菌糸は全く存在しない。大小不同及び出芽形細胞は著明なる増加を来し、従つて総菌数の激増が見られる。染色性の正常濃青に復帰する。

(2) 10r/cc 添加 3 時間後では円形細胞が少々減少し卵円形又は長楕円形が少数見られる。大小不同及び出芽形細胞は 1r/cc 3 時間の場合に比較し少々減少を来す。染色性の不良なるものが散見され、濃淡不規則な青染細胞を呈す。6 時間後には更に円形細胞の減少が見られ、細胞の変形が著明に見られる。即ち細胞表面の凹凸を生じ胞体の縮小或は逆に膨脹が著明に見られ、大小不同出芽形細胞の著減があり擬似菌糸が少々存在し総菌数は減少する。染色性不良なる細胞は極めて多い。12 時間以後は細胞の変形極めて著明であり大部分の細胞は萎縮を見る。大小不同及び出芽形細胞は著減し総菌数の減少が目立つ。胞体の染色は極めて不良であつて胞体内に空泡様の全く不染部分が生じ、中には細胞内容の欠除するが如く見られるものがある。24 時間後には細胞変形増々多く略々円形を呈するものは極めてまれである。出芽形細胞は見られず総菌数の減少が著明である。染色性の正常なるものは全く見られない。48 時間及び 72 時間後にはこの程度が更に顕著である。

(3) 100r/cc 添加 3 時間後には細胞の変形がすでに著明となり円形細胞が少数である。

大小不同及び出芽形細胞は著減している。染色性は極めて不良であり空泡様の不染部分が多く見られ、正常なる染色性細胞は殆んど存在しない。6時間後には細胞の変形程度は更に進行し、崩壊を示すものが見られる。擬似菌糸大小不同及び出芽形は殆んど欠除する。染色性は細胞全体の淡青或は不鮮明なる部分的淡青が見られる程度である。12時間以後は殆んど総ての細胞が完全崩壊する。

第2項 培地 pH の変化

サブローブイオンの pH は最初5.0であるが、C. alb. が發育する場合時間の経過と共に低下する。1時間後は4.9、6時間後は4.6、24時間後は4.3となり、96時間後では3.8に

まで低下を示す。1r/cc の NK 91 を含有するサブローブイオンの場合は同様に低下するが、その率は少く1時間後は5.0で変化はないが、3時間後に4.9となり6時間後では4.75となる。24時間後は4.4となり96時間後に4.0に低下する。10r/cc の場合の低下率は更に少く3時間までは全く変化なく6時間後4.85となり24時間後4.6、96時間後4.4である。100r/cc では pH の変化は少しも認められない。96時間後に於ても最初の pH 5.0を維持する。又感光色素無添加、C. alb. 未接種のサブローブイオンの pH は96時間内に全く変化を認めない。

第24表 pH の変化

時間	前	1	3	6	12	24	48	72	96
7/cc									
100	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
10	5.0	5.0	5.0	4.85	4.7	4.6	4.5	4.45	4.4
1	5.0	5.0	4.9	4.75	4.65	4.4	4.15	4.0	4.0
対	5.0	4.9	4.75	4.6	4.5	4.3	4.1	3.9	3.8

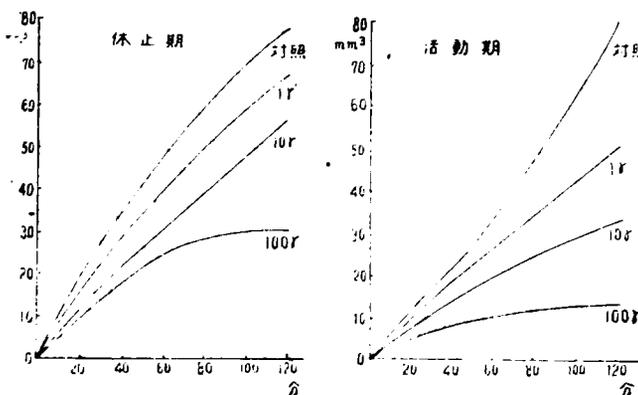
第3項 C. alb. の呼吸に及ぼす影響

実験成績は同一実験を3回行いその平均値によつて第25表に表示した。基質内に糖を含まない場合の C. alb. の呼吸は可成障碍され酸素消費量は低下する。休止期状態の酸素消費量は表の如く対照は時間と共に略々規則的に増加する。1r/cc 及び 10r/cc の NK 91 が存在する場合、2時間後約10%及び約20%の消費量減少が見られ、100r/cc の場合約58

%の減少を来す。然し前半の1時間では40~50%の減少を示すが、後半の1時間では酸素消費量は急激な減少傾向が認められる。次に活動期 C. alb. の酸素消費量は基質のサブローブイオンに4%の糖を有しているため盛んに増殖し、酸素消費量は休止期に較べ甚しく増加する。対照は時間と共に増加率が上昇する傾向が認められる。1r/cc では2時間後40%減少し、10r/cc では約55%減少する。

100r/cc では酸素消費量は極めて少く約80%の低下を示す。且時間と共に増加率が下降する。

第25表 C. alb. の呼吸 (酸素消費量)



第4章 総括並に考按

以上の実験を総括すれば次の如くである。感光色素109種、即ち Cyanin 系 Monomethin 色素3種、Trimethin 色素2種、Pentamethin 色素13種、Heptamethin 色素2種、三核型色素9種、Styryl

型並びに誘導体色素 32 種, Anil 型色素 2 種, Anilinovinyl 型及び誘導体色素 26 種の抗 Candida 作用を検した. 5r/cc 24 時間後発育完全阻止を有効, 10r/cc 24 時間後発育完全阻止を稍々有効及び 10r/cc にて対照と同程度発育するものを無効とすれば, 第26表の如く有効12種, 稍々有効13種, 其の他は無効84種である.

第26表 試験管内成績総括表

有 効	74 91 193 340 366 375 436 458 461
	468 469 470
稍有効	3 6 14 21 22 23 33 44 64 92 96
	342 376
無 効	4 5 8 19 30 34 35 54 55 60 67 75
	76 77 83 86 88 90 94 99 101 105 116
	122 125 126 129 132 143 146 165 187
	191 215 218 228 243 247 252 254 256
	257 260 261 267 270 271 294 298 304
	311 343 344 345 350 351 354 359 362
	367 372 379 389 390 393 395 402 404
	405 409 413 419 425 430 431 432 434
	435 439 442 445 450 463 498

Wright 等は 60 種の感光色素の抗フィラリヤ性について有効感光色素の必須条件は 4 位のアンモニヤ窒素と 3 位の amin 窒素が奇数個の共軛二重結合で距てられ, 而も $>+N=C-(C=C)_n-N \leftrightarrow N-C=C-(C=C)_n=N+$ の如き共鳴系を形成する事が必要であり, 構造上の変化は二次的であると述べている. 村上教授⁽¹⁰²⁾⁻⁽¹⁰⁶⁾は系統的に各種感光色素について一般細菌に於ける抗菌性に関する一連の実験を行い, 非抗酸菌及び抗酸菌十数種に対する抗菌性は殆んど総ての感光色素に見られたと述べ, 又色素型, 色素母核, alkyl 基, 及び halogen 及び酸基について抗菌性を検討している. 即ち Cyanin 型, Styryl 型, Anil 型, Aminovinyl 型各色素は色素母核である環状 amin 化合物に附加した alkyl 基の連鎖が延長するにつれて抗菌性の増大することを確認し, heptyl 基に於て最高となり, octyl 基以上になれば効果の減退をみたとい, 又色素母核にクロール及びヨードを結合

した場合, ブローム又はシアンを附加した場合より抗菌性は大であり, 更に Styryl 型色素は Cyanin, Anil 及び Anilino 型色素に比較し, 一般にその抗菌性は増大すると述べている. 特に chinaldin 核を有する Styryl 型色素は葡萄状球菌に対し 160~640 万倍稀釈, コレラ菌に対し 40 万倍稀釈まで発育阻止作用を認めた. 高橋⁵⁴⁾はメチン数による影響を研究し, n-heptyl 系 dimethylthiazolocyanin に於ては葡萄状球菌に対しては hepta > mono > meso Cl penta > tri の順に強く, Thiocyanin 型では methin 数の影響は不定であり, acetyl-amino 型と acetyl-aminohexnyl 型色素では hepta 及び penta-methin が強い傾向を有し, Styryl 型色素では tetramethin 型が抗菌性を増強すると云う. 私の行つた抗 Candida 作用の実験成績を色素の型, 母核, Alkyl 基, Halogen について考按すれば次の如くである.

(1) 色素の型と抗菌性: Cyanin 型色素では Monomethin 色素中稍々有効 2 種, Trimethin 色素稍々有効 6 種, Pentamethin 色素有効 2 種, Heptamethin 色素及び三核型色素は何れも無効であることより, Monomethin, Trimethin 及び Heptamethin 色素が抗 Candida 作用には注目すべきものと考えられる. Cyanin 類似色素では Styryl 型及び誘導体色素中に有効なものが認められ, 特に Paradimethylaminostyryl 型が最も優れた成績を示し, 有効 10 種, 稍々有効 4 種であつた. Anil 型色素及び Aminovinyl 関連色素は何れも効力を認め難い. 之等の結果を色素型より推察すれば, Pentamethincyanin 及び Styryl 型色素が抗 Candida 作用を示す有効色素と思われ, 特に Paradimethylaminostyryl 型に有効色素が多いことは para 位の dimethylamino 基が発育阻止に及ぼす影響大なるものがあると推察される.

(2) 色素の母核と抗菌性: Thiazol 核色素では被検色素 29 種中有効なるものは第 13 表の NK 366 唯 1 種のみで他は何れも無効である. Benzothiazol 核の被検色素は 20 種中有効は Pentamethin 型色素 2 種と Styryl 型色素の 4

種計6種で Monomethin, Trimethin, Heptamethin, Anil, Aminovinyl 及び Hexamethin 型色素は何れも無効であつた。Naphtothiazol 核色素7種では有効なるもの3種、稍々有効なるもの2種で何れも Styryl 型色素であり、その他は無効であつた。Pyridin 核色素では10種中有効なるもの1種のみで、他は無効であつた。4位に結合基を有するChinorin核色素14種中有効と思われるものはなく、稍々有効なるものは第1表2種、第3表4種及び第13表の1種計7種であつた。2位に結合基を有するChinorin核色素13種では有効なるものは第13表1種、稍々有効なるものは第2表5種及び第13表1種であり、benzothiazol, naphtothiazol 及び chinorin 核中に有効なるものが見られる。

(3) alkyl 基と抗菌性：本実験成績に於て有効色素中2種中10種が n-ethyl 基であり、残りは n-butyl 基と n-heptyl 基各1種であることより推察すれば、特に高級 alkyl 基の増強作用は認め難い。

(4) Halogen 及び酸基と抗菌性：被検色素の有効なるものはヨード基8種、ブローム基1種、酸基3種であり、之等の結果より判定すれば必ずしも halogen 基が抗菌作用上必須のものではないものと推察され、NK 342のヨード基色素よりNK 468の Paraxysalicyl 酸基及びNK 470の salicyl 酸基の色素に抗菌性の増強が見られることは興味ある示唆を与えたものと考察される。以上の如く C. alb. に対しても一般細菌の場合に略々同様の構造式と抗菌性との関連性が認められた。

横井、波多野は赤外感光色素合成12号、虹波、紫光について酵母に対する抗菌性を実験し、鈴木はNK 266, 143, 352, 353について糸状菌及び酵母に対する試験管内抗菌性を認めている。久村も糸状菌及び酵母に対し各種感光色素の抗菌性を検討し、NK 266, 352, 375は強力な発育阻止作用を有し、更にNK 83, 84, 125, 343, 376にも可成り強力な抗菌性を認めたと報じている。最近占部⁹⁾、檜垣¹⁰⁾は多数の感光色素について抗真

菌性に関する一連の実験を行い、NK 461, 458, 74が有効であり、且その中ではNK 461が最高の抗真菌性を有し、又血清添加培地に於てもその低下を来さないと述べている。同氏等の実験に於ても色素の型では Styryl 型が甚だ強力な抗真菌性を示したと云つている。

次に感光色素の作用機転について現在までに行われた研究業績を簡単に述べる。

波多野⁷²⁾は光化学的酸化還元作用によつて生体の酸化還元系に作用して全身の細胞機能を賦活亢進するとしている。一方緒方¹⁵⁾⁻¹⁸⁾は家兎の週期性波動呼吸がルミンによつて換起される事より、その作用機転は間脳視床下部副交感帯(黒津)に一致する部分の刺戟に起因すると報じた。然し感光色素に関する研究初期の之等の説は現在全面的に肯定され難い点が多い。生体に応用された感光色素の直接の増感光性は甚だ多くの疑問を有し、又黒津氏副交感帯の刺戟説もその後種々な薬物により週期性波動呼吸が見られ、且機械的刺戟による波動惹起時に出現する副交感神経刺戟症状を欠除する事より幾多の批判がある所である。

他方横井は家兎の強心作用及び血管収縮作用を認め、更に呼吸運動の増強、運動神経末梢の麻痺作用があると述べ、伊能⁵⁾も墓心臓に対する軽度の促進作用と末梢血管の収縮作用を認めている。逆に今永⁶⁾は虹波では人体皮膚温度の上昇を来す点より血管拡張作用があると見ており、緒方もルミンについて同様血管拡張作用を認めている。

別に谷村⁵⁵⁾⁵⁶⁾は紫光の瞳孔及び腸管に関する実験に於て副交感神経末梢麻痺作用を認め、又星野⁸⁶⁾もルミン、プラトニンに同様の作用があると報告している。逆に篠原⁴⁵⁾は虹波を人体に投与した際アトロピンを前以て注射すれば血圧下降が防止され、且血色素及び赤血球の減少を来さない点を副交感神経末梢刺戟の為であると説明している。今永⁶⁾はルミン及びプラトンは交感副交感の両者共その失調状態にある時は改善的に作用し、特にプラトニンはより強く働くと述べている。

大江¹²⁾はコリンエステラーゼ阻止作用を認め、アセチルヒヨリン作用を強化すると云う。

網内系機能に関しては杉本⁵¹⁾、荒川¹⁾、今永⁶⁾、三上^{93,94)}等はその亢進を認め、抗体産生に寄与すると報じている。然し箕田¹⁰⁰⁾は逆に溶血連鎖状球菌による感染症の際には虹波は抗体産生の減弱を来すことを報告している。又大島¹³⁾は虹波の抗体産生増進作用は極めて少ないと述べている。

肝機能に対し波多野⁷³⁾は虹波及び紫光の作用を組織呼吸の面より検討し、低濃度に於てその亢進を来すと述べている。山内¹⁰⁸⁾はプラトニンの場合は組織呼吸に何等も関与する所がないと報じている。解毒機能では市田⁴⁾、鳥井⁶⁵⁾、波多野及びその門下⁷²⁾⁻⁷⁸⁾は諸種薬物に対する解毒作用を有することを認めている。

脾臓の糖代謝に関しては今永・喜島⁹⁸⁾は虹波の一過性過血糖を認め、又岡本²⁴⁾はルミンに於ける軽度の血糖低下作用を観察している。

内分泌系に対しては波多野⁷²⁾、鈴江⁴⁶⁾・福岡⁴⁸⁾等は或る程度の機能亢進を見た述べている。

酵素作用では波多野等⁷⁵⁾はアミラーゼ、トリプシンの糖化促進を認めているが、三上⁹⁴⁾はアミラーゼ、リパーゼがルミン投与の際軽度の減少を来すと報じている。

その他鈴江・佐藤¹⁷⁾は実験的発癌作用に対する阻止作用を認め、又榎原⁷⁰⁾、那須⁶⁹⁾は水分及び塩分代謝の促進があると云っている。植物の発芽乃至生長について尾形等²¹⁾⁻²³⁾は促進作用を認めると述べている。

以上は一般的に感光色素の作用の概略について列記したのであるが、ここに私が行つた *C. alb.* に対する作用機転検索の成績を見ると、形態の変化では出芽形の減少、染色性の不定等が見られ、これ等の変化は高濃度に於て著明となり、遂には胞体の完全崩壊が認められる。而して *C. alb.* が発育する際には糖の分解及びその利用が旺んに行われ、その結果培地 pH は低下を来すと考えられるが、この作

用は色素添加によつて抑制され培地酸化による pH 低下は惹起されず、その程度は濃度によつて異なるが、高濃度に於ける程著明である。又その発育乃至分芽増殖には酸素消費が必然であるが、この面より検討しても消費量は色素添加により著明な減少を認めた。これらの点より考按すれば波多野の言う如く組織細胞機能の賦活増進、或は今永の述べる如く抗体産生の促進等の間接的作用の他に NK91 に於ては、直接的な純然たる抗菌性を有する事が明白であり、糖利用能の低下、更に呼吸阻害作用は之等を裏書しているものであろう。

尚前述した如く感光色素は複雑なる作用を有しており、作用機転の詳細は未だ充分解明されていない現状であり、更に抗菌性に関する面に於ける一層精細なる作用機序についての検討は、今後尚追求の要が多分に存するものと考えらる。

第5章 結 論

余は各種感光色素の構造式と抗 *Candida* 作用の関連性について検索し、更に強力な抗 *Candida* 性を有し且血清添加によつてもその効力の減退を来す事の少い NK91 号について、*C. alb.* に及ぼす影響を実験し次の結論を得た。

(1) 色素の型に於ては Monomethin, Trimethin 及び Heptamethincyanin 型色素、Styryl 型色素は強力な抗 *Candida* 性を有する。

(2) 色素の母核に於ては benzothiazol, naphthothiazol 及び chinorin 核は有効なるものが多い。

(3) 色素の alkyl 基に於ては、高級 alkyl 基は必ずしも有効ではない。

(4) 色素の Halogen 及び酸基に於てはヨード基に 8 種、臭素基に 1 種、酸基に 3 種の有効な色素が認められた。

(5) NK91 は *C. alb.* の形態に著明な変化を齎らす。

(6) NK91 は *C. alb.* 混入サブローイオンの pH 低下を抑制する。

(7) NK91 は *C. alb.* の呼吸阻止作用を有

し酸素消費量の低下を来す。

稿を終るに臨み終始御懇切なる御指導を賜わり、
且御校閲の労を戴いたる恩師平木教授に深甚の謝意

を表すると共に、試料を提供された日本感光色素研
究所小合及び伴野両氏に感謝する。

(文献後掲)

Dept. of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director Prof. Dr. K. Hiraki)

**Fundamental and Clinical Studies on Medical Treatment of
Moniliasis with Photosensitizing Dyes.**

Part. I

**The relation between constitutional formulas of photosensitizing
dyes and anticandida action and influences of photosensitizing
dye NK 91 upon *Candida albicans*.**

by

Yoshio Yamaguchi

The author has investigated a specific fungistatic action against *Candida albicans* Tanimoto by using 109 different species of photosensitizing dyes, classifying them into groups according to their constitutional formulas.

Among so many species photosensitizing dye NK 91 which belongs to Styryl type showed the strongest fungistatic action and scarcely decreased its effect by adding serum. The results obtained can be summarized as follows :

- 1) In respect of the types of dyes, Monomethin, Trimethin, Heptamethin, Cyanin and Styryl types showed a strong fungistatic action.
 - 2) In respect of the radical nucleus (of dyes, Benzothiazol, Naphtothiazol and Chinorin nucleus showed a moderate fungistatic action).
 - 3) In respect of the alkyl radical, high alkyl did not always show the fungistatic effect.
 - 4) In regard to Halogen and acid radical, eight kinds of iodine radical, one kind of bromine radical, and three kinds of acid radical were efficacious.
 - 5) NK 91 changed remarkably the shape of *Candida albicans* and moreover in the high concentration, perished utterly *Candida albicans*.
 - 6) NK 91 inhibited the decline of pH of Sabouraud-glucose medium in which *Candida albicans* was inoculated.
 - 7) The respiration of *Candida albicans* was inhibited and its oxygen consumption lowered by NK 91.
-