The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	黄色ブドウ球菌に対する第四アンモニウム塩系消毒剤の殺菌機構
Author(s)	高崎, 中夫
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39411
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 11 】

氏　　名	高崎中夫（たかさきあつお）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　11670　号
学位授与年月日	平成7年2月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	黄色ブドウ球菌に対する第四アンモニウム塩系消毒剤の殺菌機構
論文審査委員	(主査) 教授 西原　力 (副査) 教授 三村　務　教授 溝口　正　教授 藤原 英明

論文内容の要旨

近年，MRSA（Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*）による院内感染が問題になっているが，その有効な対策は消毒剤による環境微生物制御であり，人にも環境にもやさしい有効な新しい消毒剤の開発が望まれている。新規消毒剤を研究開発するためには，まず各種微生物に対する既存消毒剤の殺菌機構を調べ，明らかにしていくことが基本である。ところが，抗生物質の作用機構や耐性機構に比べて消毒剤の殺菌機構あるいは抵抗性（耐性）機構に関して系統的な研究は少ないのが現状である。そこで，消毒剤として有効性が高く古くから汎用されている第四アンモニウム塩系消毒剤を採り上げ，MRSAで問題になっている黄色ブドウ球菌に対する作用について検討することにした。

はじめに，臨床から分離されたMRSAとメチシリン感受性の標準株計35株について，市販抗生物質および消毒剤がどの程度効力を示すかを調べた。その結果，両薬剤に対する耐性と抵抗性の関連から，抗生物質耐性菌は必ずしも消毒剤に抵抗性でないこと，言い換えれば，抗生物質と消毒剤の作用機構は全く異なっていることを示した。そこで，第四アンモニウム塩系消毒剤であるdidecyldimethylammonium chloride（DDAC）を用いて黄色ブドウ球菌に対する作用機構を検討した。DDACの最小殺菌濃度（MLC）は32 μg／mlであった。^{14}CでラベルされたDDACを用いて菌体への取り込みを調べたところ，MLC以下の第1相の小さい取り込みとMLC以上の第2相の大きな取り込みの二相性の曲線を示した。第2相での取り込みは死菌への取り込みであるから，この第1相で取り込まれたDDACが殺菌作用に関与していると考えられた。この取り込みは迅速で温度にも時間にも依存しないことより，主に物理化学的な吸着であると推察された。また，第1相のDDACで処理した菌体内におけるDDACの分布は細胞膜に最も多くみられた。MLCである32 μg／ml以上の濃度で処理すると菌体表面にParticle状の突起が観察され，また菌体同士が集合し凝集がみられた。さらに，菌懸濁液をDDACで処理するとMLC以上の濃度から濃度依存的に濁度の増加がみられた。これらの現象は，菌体に取り込まれたDDACが細胞膜など菌体表層に作用したことにより生じた変化と推察された。したがって，菌体をDDACで処理した時の第1作用部位として，菌体表層にある細胞膜であることが示唆された。

ところで，第四アンモニウム塩系消毒剤は陽イオン界面活性剤であり，その構造から考えて疎水的相互作用とイオン

的相互作用が考えられる。DDAC の殺菌作用，菌体への DDAC の取り込みおよび後述のDDACによる細胞膜への傷害作用のいずれも，疎水性の弱い第四アンモニウム塩である tetramethylammonium chloride では影響されなかったのに対し，疎水性作用の強い非イオン性界面活性剤である Polysorbate 80によりこれらの現象はすべて抑制された。このことは，DDAC の殺菌作用には $C_{10}H_{21}$ である疎水基の関与が大きく，$[>N<]^{+}$のイオン的な関与は小さいものと推察された。したがって，DDAC が作用する部位は，菌体表層にあり疎水性成分とマイナスチャージをもつ細胞膜，特にリン脂質が有力なものと推察された。そこで，DDAC の細胞膜への影響を調べるため，膜流動性の検討を行った。菌体から抽出したリン脂質から調製したリポソームを，DDAC で処理すると流動性が上昇することが分かった。このことは，DDAC が菌体の膜流動性を上昇させる作用を有していることを示唆するものである。次に，DDAC が細胞膜の機能にどのように影響しているかを調べたところ，膜構造を構成しているリン脂質を遊離し，細胞内成分であるK^{+}や260nm 吸収物質を漏出し，さらに呼吸および呼吸系に関係する酵素を阻害した。このように，DDAC は膜の持つ機能を幅広く傷害することが分かった。

以上の結果を基に，DDAC の作用機構を次のように考察した。すなわち，DDAC は膜リン脂質との強い疎水性相互作用と弱いイオン的な相互作用により，細胞膜に取り込まれる。この取り込まれた DDAC が細胞膜の流動性を上昇させる。膜の流動性が上昇することにより細胞膜の構造が変化する。膜の構造が変化すると，膜透過や呼吸系に関係する膜蛋白質が傷害されると考えられる。その結果，細胞内成分である K^{+} などが漏出し，また呼吸が停止する。このように，DDACは細胞膜に作用し，本来，膜が持つあらゆる機能を非特異的に破壊することにより殺菌するものと考察した。本研究で確認できた殺菌機構は抗生物質に対する MRSA の耐性機構とは直接関係はなく，また，グラム陽性菌だけでなくすべての細菌に対し共通に働く機構である。したがって，第四アンモニウム塩系消毒剤が各種微生物に有効性を示す一つの根拠となると思われる。

論文審査の結果の要旨

高崎君は，第4アンモニウム塩系消毒剤の黄色ブドウ球菌に対する作用機構について，didecyldimethylammonium chloride（DDAC）を用いて検討した。その結果，菌体を最小殺菌濃度（MLC）以上の DDAC で処理すると菌体表面に小突起物が現れること，DDAC の菌体への取り込みは MLC を境界とした二相性を示すことなどを明らかにした。さらに，これらの現象はすべて，tetramethylammonium chloride の共存によっては影響を受けないが，polysorbate 80 の共存によって抑制あるいは遅延されることなどを見い出した。これらの事実から，作用部位が細胞膜であると推定し，DDAC による膜脂質の流動性の上昇および呼吸系酸素の阻害を示し，殺菌機構モデルを提出した。これらの知見は第4アンモニウム塩系消毒剤は細胞膜のもつあらゆる機構を非特異的に作用することを示したものであり，MRSA などによる感染症対策の1つとしての有用性に根拠を与えるものである。

これらの成果は学術的にも高く評価されるだけではなく，実用的にも有益であり，博士（薬学）の学位請求論文として，充分価値あるものと認められる。