

原 著

## *Trichophyton tonsurans* 感染症に対するミコナゾール含有シャンプーの予防効果の検討

二 宮 淳 也   伊 藤 弥 生   滝 内 石 夫

昭和大学藤が丘病院皮膚科

〔受付 11 月 29 日, 2004 年, 受理 2 月 21 日, 2005 年〕

### 要 旨

目的：近年国内で流行する *T. tonsurans* 感染症の感染防止策として、ミコナゾール含有シャンプーによる洗浄に着目し、その効果について実験白癬モデルを用い検証した。

方法：ヒト踵部角質ないしモルモット皮膚表面にミコナゾール含有シャンプー希釈液を塗布・洗浄後、*T. tonsurans* 菌液を塗布し恒温恒湿槽内で静置。水洗後サブロー培地上に接種・培養し、コロニーの有無、大きさを観察した。モルモット皮膚については菌液塗布後の洗浄にミコナゾール含有シャンプーを用いた系も用意した。

結果：ヒト踵部角質およびモルモット皮膚の何れの系においても、ミコナゾール含有シャンプーを塗布した群は、ミコナゾールを含有しない対照シャンプーを塗布した群と比較して有意に菌の発育が抑制された。また、モルモット皮膚を用いた実験では、菌液塗布の前日および塗布後にミコナゾール含有シャンプーを用いた方が、いずれか一方に用いるよりも抑制効果が高かった。

結語：単にミコナゾールを含まないシャンプーを用いて洗浄するよりも、ミコナゾール含有シャンプーを用いた方が、感染予防効果が高い。また、反復使用した方が、より高い感染防止効果が期待できるものと思われる。

**Key words:** *Trichophyton tonsurans*, 硝酸ミコナゾール (miconazole nitrate), 体部白癬 (tinea corporis), 頭部白癬 (tinea capitis), 感染症予防 (control of infectious disease)

### 序 文

2002 年の第 46 回日本医真菌学会総会において、全国各地の高校等の柔道部員に発症した *Trichophyton tonsurans* (以下 *T. tonsurans*) による白癬が報告<sup>1-3)</sup> されて以来、今もなお格闘技の競技者間における流行が治まる気配は無く、社会的・公衆衛生的問題となっている。日本医真菌学会や日本皮膚科学会では、パンフレットや website にて啓蒙活動を行い、感染の拡散防止を呼びかけている。感染防止法についても記載が見られるものの、その効果について具体的な検証はなされていない。

今回、感染防止策の一つとしてすでに前記のパンフレットに記載されている、0.75%ミコナゾール含有シャンプーの効果を実験的に検証したので、その結果と共に若干の考察を加え報告する。

#### A. 材料

菌液：体部白癬患者より分離され、スライドカルチャーおよび PCR-RFLP 法にて *T. tonsurans* と同定された菌を 8 ml のサブローブドウ糖液体培地を入れた 20 ml

のスクリーバイアル中で 27°C, 2 週間培養する。得られた菌塊を滅菌蒸留水 10 ml に浮遊し、ブレンダーでホモジネートしたものを使用とした。実験に先立ち、菌液の希釈系列を作成しサブローブドウ糖培地上で培養したところ、64 倍までコロニーの形成が見られた。また、実験に用いた *T. tonsurans* に対するミコナゾールの最小発育阻止濃度 (MIC) は 0.06 µg/ml であった。

試薬：0.75%ミコナゾール含有シャンプー（フルフルシャンプー®）原液を用意し、蒸留水で 0.1% に希釈して用いた（以下 M-Shampoo）。対照には、ミコナゾールを含まないが同じ成分のシャンプーを用意し、同様に希釈して用いた（以下 P-Shampoo）。

ヒト角質試料：ヒト踵部からハサミで採取した角質を約 5 mm 角にトリミングし、エチレンオキシサイドによるガス滅菌を施した。

モルモット皮膚試料：ネンブタール腹腔内注射にて麻酔を施した後、脱毛ワックスを用いて背部皮膚を脱毛、メスを用いて採取し、10×30 mm のサイズにトリミングした。

#### B. 方法

##### 1. 皮膚試料を用いない実験系

菌液 0.5 ml に、0.75%ミコナゾール含有シャンプー原液 0.5 ml を添加し攪拌、室温で 20 分間静置後、3,000

別刷請求先：二宮 淳也

〒227-8501 神奈川県横浜市青葉区藤が丘 1-30

昭和大学藤が丘病院 皮膚科

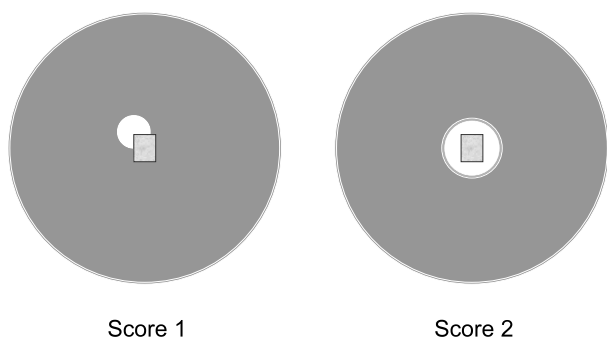


Fig. 1. Colony growth score. Score 1: colony developed around some part of the sample, score 2: colony developed around the entire sample.

rpm, 5分間遠沈し, 沈渣に蒸留水 1 mlを加えよく洗浄し, さらにこれを2回繰り返した.

得られた沈渣をサブローブドウ糖斜面培地に接種した.

## 2. ヒト角質試料を用いた実験系

ヒト角質を, 切断面を上にして両面テープでスライドガラス上に固定し, M-Shampoo もしくは P-Shampoo を滅菌した綿棒で塗布し, 室温に静置, 3分, 5分, 10分後に蒸留水で十分に洗浄する.

再び切断面を上にして固定し, 菌液を綿棒で塗布し, 37°C, 湿度85%の恒温恒湿槽内に静置する.

12時間後に取り出し, 蒸留水にて洗浄後サブローブドウ糖斜面培地上に接種した.

増殖抑制の程度をより仔細に判定するために, 培地上に接種したヒト角質試料の一部に, 小さなコロニーの形

成を認めるものをスコア 1, ヒト角質試料の全体に及ぶ大きなコロニーの形成を認めるものをスコア 2 とした (Fig. 1). 結果は t 検定を用いて検定した.

## 3. モルモット皮膚試料を用いた実験系

### ① 前処置

モルモット皮膚を塩酸ベンザルコニウムにて消毒後, 蒸留水にて洗浄する. 各試料を M-Shampoo, P-Shampoo に5分間皮膚を浸した後, 蒸留水にて洗浄し, 4°Cにて一晚静置した.

### ② 後処置

試料の表面に菌液を塗布し, 37°C, 1時間静置する. その後各試料を M-Shampoo, P-Shampoo に5分間浸し, さらに水洗した後, サブローブドウ糖平板培地上に接種する.

結果は Wilcoxon の順位和検定を用いて検定した.

## C. 結果

### 1. 皮膚試料を用いない実験系

6日目にコロニーを検出した.

### 2. ヒト角質試料を用いた実験系

接種8日目のスコア値の合計は, M-Shampoo を用いた系では3分間浸透で4, 5分間および10分間浸透で3であったのに対し, P-Shampoo を用いた系では3, 5, 10分間浸透のいずれも6 (全てのサンプルがスコア 2) で (Fig. 2), M-Shampoo を用いた系に有意なコロニーの形成抑制が認められた ( $p < 0.05$ ).

### 3. モルモット皮膚試料を用いた実験系

M-Shampoo 使用群では平均9.9日目に, M-Shampoo 非使用群では平均7.7日目にコロニーを検出し, M-

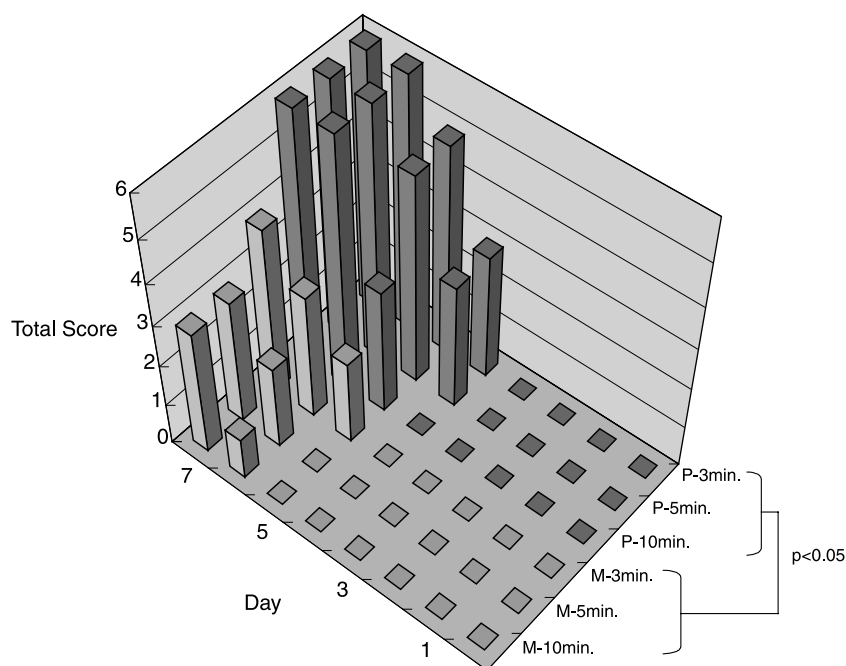


Fig. 2. Time course of total colony growth score indicated in Fig. 1. Before applying *T. tonsurans*, human heel skin samples were washed with miconazole nitrate shampoo (M) or a placebo shampoo (P) for 3, 5 or 10 minutes.

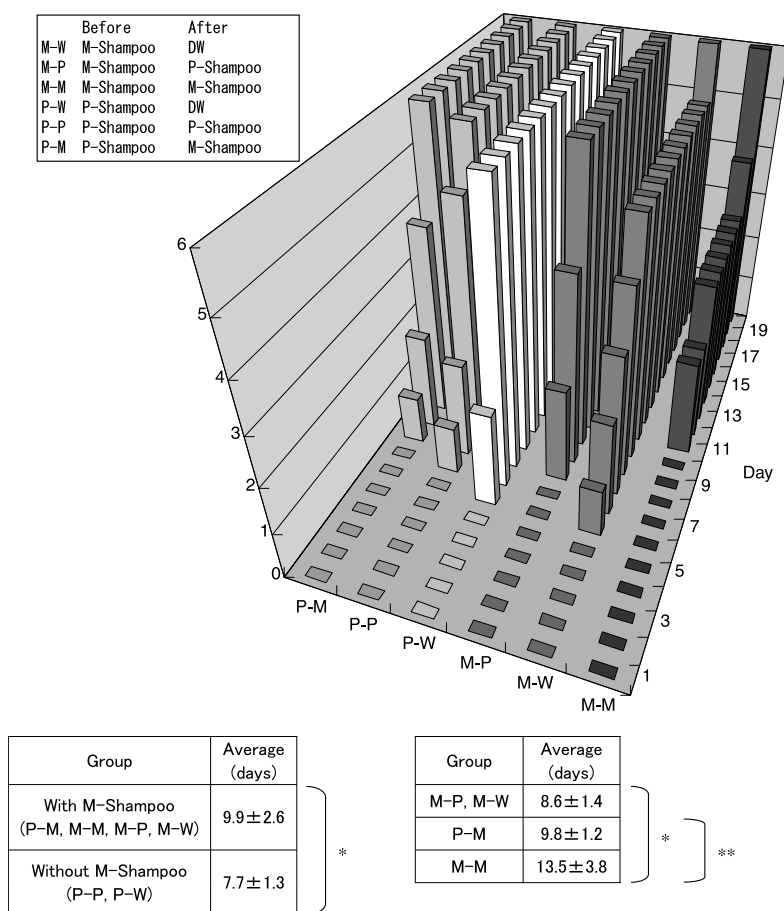


Fig. 3. Time required to develop a colony on a guinea pig skin sample washed before and after applying *T. tonsurans*. M-Shampoo: miconazole nitrate shampoo; P-Shampoo: control. DW: distilled water. (\* $p < 0.005$ , \*\* $p < 0.01$ )

Shampoo 使用群に有意なコロニー検出までの期間の延長が認められた ( $p < 0.005$ ). また, M-Shampoo 前後処置群では平均 13.5 日目に, M-Shampoo 前処置群で平均 8.6 日目, M-Shampoo 後処置群では平均 9.8 日目にコロニーを検出した (Fig. 3). M-Shampoo 前後処置群のコロニー検出までの期間は, 前処置群 ( $p < 0.005$ ) および後処置群 ( $p < 0.01$ ) の何れと比較しても有意差が認められたが, 前処置群と後処置群の間には有意差を認めなかった.

### 考 案

筆者らは, ヒト角質に皮膚糸状菌液を塗布する実験モデルを用いて, 皮膚糸状菌の感染における至適条件の検討を行ってきた<sup>4-6)</sup>. 同様のモデルを用いて *T. tonsurans* の感染力についても検討し, これを報告した<sup>7)</sup>. 35°C, 湿度 80% の条件下では, 他の菌種では角質への侵入像がほぼ認められなかったにもかかわらず, *T. tonsurans* では体表面で 1 日, 切断面で 0.5 日という極めて短時間に, 角質への侵入像が観察された. 我々はすでに, 体部白癬の如く湿度の低い部位における感染の成立には, 微小な角質の損傷が重要な役割を果たしている可能性を報告した<sup>5)</sup>. この切断面での実験結果は, 対戦によって頻繁に

外傷を受けていると考えられる格闘技競技者間では, 極めて容易に皮膚糸状菌による感染が成立することを裏付け, 更に体表面での結果は *T. tonsurans* の強い感染力を示しているものと思われる.

本邦の格闘技競技者間で *T. tonsurans* による体部・頭部白癬が流行する一方, *T. tonsurans* は, 海外において小児の代表的な皮膚糸状菌感染症である頭部白癬の主たる原因菌としても重要である. American Academy of Dermatology による頭部白癬および白癬性毛瘡のガイドライン<sup>8)</sup> では, 感染防止策として, 直接の接触やブラシ・櫛・帽子の共有を避けることの他, 毎日の洗髪を挙げている. この感染防止策ではシャンプーの種類について言及していないが, ケトコナゾールや硫化セレン含有シャンプーが, 欧米では広く用いられている. ただし, 頭部白癬の治療には内服抗真菌剤が必須であり, シャンプー剤は補助的治療として位置づけられている. 近年行われた頭部白癬に対する 2% ケトコナゾール含有シャンプー単独療法のトライアルでは, 完治に至ったのは 33% に過ぎない<sup>9)</sup>. このように抗真菌剤含有シャンプー単独では, すでに発症した頭部白癬に対する治療効果は期待できない. 集団発生においては無症候性キャリアーの存在が重要で, このキャリアーに対して抗真菌効果を

有するシャンプーを使用すべきであるという意見<sup>10)</sup>もある。

ミコナゾール含有シャンプーの、*T. tonsurans*に対する感染防止効果を検討するにあたって、ミコナゾールに対するMICを測定したところ0.06 µg/mlであった。通常、ミコナゾール含有シャンプーを用いて洗浄し、これをすすいだ際には約0.1%に希釈されるという<sup>11)</sup>。ミコナゾール含有シャンプー0.1%希釈液を皮膚に滴下した際の単位面積当たりの容量は、1 cm<sup>2</sup>当たり0.004 mlで、これを換算すると、MICは0.00024 µg/cm<sup>2</sup>となる。ミコナゾール含有シャンプーで洗浄後24時間経過した後でも、角質内には0.21±0.09 µg/cm<sup>2</sup>のミコナゾールが貯留する<sup>11)</sup>。このことから、ミコナゾール含有シャンプーによる洗浄は、有効な感染防止策となり得るものと仮定した。しかしながら、皮膚試料を用いず直接ミコナゾールを菌に反応させる実験系では、0.75%シャンプー原液を用いたにもかかわらず6日目にはコロニーが検出されたことから、我々は感染防止策としてのミコナゾール含有シャンプーの作用について次のような推論を導いた。

- ① ミコナゾール自体の持つ効果は静菌作用であるため、増殖を抑制できても、菌を完全に死滅させることは困難である。
- ② 短時間の接触では奏効し難いが、角質内に貯留し菌に持続的に作用するとすれば、増殖抑制効果が得られる。

今回、ヒト踵部角質を用いた実験白癬モデルを用いて、この推論を検討した。コロニーの検出に要する期間には、ミコナゾール含有シャンプーと対照の間に明らかな差は無いように思われたが、スコアの合計を比較するとミコナゾール含有シャンプーを用いた系では3, 5, 10分間浸透のいずれにおいても、有意な菌の増殖抑制効果が認められた。この結果は、シャンプーに含まれるミコナゾールが角質内に貯留していれば、一定の感染防止効果が得られることを示唆している。

そこで、日常生活において、運動後に毎日体を洗浄することを想定し、菌液の塗布前日と塗布直後に、それぞれミコナゾール含有シャンプーおよび対照を用いる実験系を作成したところ、ミコナゾール含有シャンプー使用群に、コロニーが検出されるまでの期間の有意な延長が見られた。また、菌の接種の前後に用いた群の方が、接種前もしくは接種後のどちらかに用いた群よりもコロニー検出までの期間が有意に長かった。これらの結果から、ミコナゾール含有シャンプーを使用した洗浄は、皮

膚に付着した *T. tonsurans* を完全に死滅することはできないものの、単にミコナゾールを含まないシャンプーを用いて洗浄するよりも、感染防止効果が高いものと結論付けた。また、感染リスクの高い人間の場合、感染機会の前後に使用すること、すなわち連日シャンプーを使用しミコナゾールが角質に貯留した状態を維持することが、感染防止策として重要であると考えられた。今後、臨床の場において、より具体的な検討がなされることが期待される。

本要旨は、第48回日本医真菌学会総会シンポジウム『*T. tonsurans* 感染症の現状と今後の展望』にて発表した。

## 参考文献

- 1) 東 禹彦, 望月 隆: *T. tonsurans* による高校生の頭部白癬の1例. 真菌誌 43: 78, 2002.
- 2) 笠井達也, 牧野好夫, 望月 隆: 複数高校の柔道部員間に蔓延した *Trichophyton tonsurans* による白癬. 真菌誌 43: 78, 2002.
- 3) 田邊 洋, 河崎昌子, 望月 隆, 石崎 宏, 金原武司: 集団検診で発見された高校柔道部員の *Trichophyton tonsurans* による白癬集団発生例. 真菌誌 43: 78, 2002.
- 4) Ninomiya J, Ide M, Ito Y, Takiuchi I: Experimental penetration of *Trichophyton mentagrophytes* into human stratum corneum. Mycopathologia 141: 153-157, 1998.
- 5) 井出真弓, 二宮淳也, 伊藤弥生, 寺本輝代, 滝内石夫: 皮膚糸状菌の角質内侵入条件に関する研究. 真菌誌 40: 93-97, 1999.
- 6) 森下宣明, 二宮淳也, 清 佳浩, 滝内石夫: 皮膚糸状菌の侵入機序. 真菌誌 44: 269-271, 2003.
- 7) 森下宣明, 二宮淳也, 清 佳浩, 滝内石夫: 皮膚糸状菌の角質内侵入と予防に関する研究. 真菌誌 45: 247-252, 2004.
- 8) Drake LA, Dinehart SM, Farmer ER, Goltz RW, Graham GF, Hordinsky MK, Lewis CW, Pariser DM, Skouge JW, Webster SB, Whitaker DC, Butler B, Lowery BJ, Elewski BE, Elgart ML, Jacobs PH, Leshner JL Jr, Scher RK: Guidelines of care for superficial mycotic infections of the skin: tinea capitis and tinea barbae. J Am Acad Dermatol 34: 290-294, 1996.
- 9) Greer DL: Successful treatment of tinea capitis with 2% ketoconazole shampoo. Int J Dermatol 39: 302-304, 2000.
- 10) Pomeranz AJ, Sabnis SS, McGrath GJ, Esterly NB: Asymptomatic dermatophyte carriers in the households of children with tinea capitis. Arch Pediatr Adolesc Med 153: 483-486, 1999.
- 11) 私信: 持田製薬株式会社

## Evaluation of the Efficacy of Miconazole Nitrate Shampoo for Prevention against *T. tonsurans* Infection

Junya Ninomiya, Yayoi Ito and Iwao Takiuchi

Department of Dermatology, Showa University Fujigaoka Hospital  
1-30 Fujigaoka, Aoba-ku, Yokohama, Kanagawa 227-8501 Japan

We report the efficacy of miconazole nitrate shampoo (Furfur Shampoo<sup>®</sup>) to prevent *T. tonsurans* infection. Method: Experimental models were made from stratum corneum of healthy human heel or guinea pig skin. Before and/or after *T. tonsurans* was applied, samples were washed with miconazole nitrate shampoo, then inoculated on a Sabouraud culture plate. Result: Though miconazole nitrate shampoo did not eliminate *T. tonsurans* on the sample completely, the time required to develop the colony (9.9 days) was obviously extended (7.7 days by control). Discussion: We concluded that miconazole nitrate shampoo is a useful method of preventing *T. tonsurans* infection, and should be used every day (before/after the chance to infect).

---