

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15654

研究課題名（和文）肺炎球菌の呼吸器感染における漢方の作用の基礎的解析

研究課題名（英文）The effect of Kampo on Streptococcus pneumoniae infection

研究代表者

赤堀 ゆきこ（Akahori, Yukiko）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：80782961

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、感冒など呼吸器感染症状が見られる際に処方される漢方方剤11種の肺炎球菌（Sp）及び自然免疫細胞に対する作用の解明を目的に行った。本研究に用いた漢方方剤11種のうち3種は、血清型に依存せずSp及び薬剤耐性Spに対して発育阻止能を示した。MIC、MBCの測定より、これらは殺菌的に働いていることが分かった。自然免疫細胞を漢方方剤で刺激したところ、TNF及びIL-6の濃度依存的な産生を認めた。一方、漢方方剤摂取マウス由来血清（漢方代謝産物）で自然免疫細胞を刺激したところ、濃度依存的なIL-1b産生を認めた。以上から、漢方方剤、漢方代謝産物の免疫細胞に対する異なる機序での作用が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

漢方方剤は、臨床的知見に基づいて広く医薬品として処方されているが、それら分子生物学的機序は明らかになっていないものが多い。一方、細菌感染症は薬剤耐性菌の増加が見られ治療の妨げとなっている。本研究により、一部の漢方方剤が直接的に肺炎球菌に対して殺菌的に働くことが明らかになった。漢方代謝産物では発育阻止能が確認されなかったものの、これらを詳細に解析することで、薬剤耐性菌を含めた新規薬剤の開発などにつながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Based on years of clinical knowledge, Kampo products are prescribed as pharmaceuticals in Japan. However, the precise mechanisms are largely unknown. In this study, we aimed to elucidate the role of Kampo on Streptococcus pneumoniae (Sp) infection. We found 3 Kampo out of 11 we tested have direct bactericidal activity against Sp. They were also active against drug resistance Sp. Kampo-stimulated innate immune cells produced TNF and IL-6 in a dose-dependent manner. When stimulated with the serum from a mouse forcedly fed Kampo (Kampo metabolite), IL-1b was dose-dependent. These results suggest that Kampo and Kampo metabolite act differently on innate immune cells.

研究分野：感染症

キーワード：漢方 感冒 肺炎球菌 薬剤耐性菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

漢方方剤は、経験的に示された臨床効果を科学的裏付けに、医薬品として広く処方されている。感染症領域においては、病原体への直接的作用、宿主免疫の賦活作用などが示されつつあるが、依然として作用機序は未解明な部分が多い。また、感冒において頻繁に処方される漢方方剤は 11 種ほどになるが、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, Sp) や自然免疫細胞に対する作用についての報告は、11 種の内の 1 種 (辛夷清肺湯) に限られる。

2. 研究の目的

本研究は、感冒に処方される漢方方剤の Sp および自然免疫細胞に対する作用の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) Sp に対する直接的作用の解析

Sp または薬剤耐性 Sp を塗布したヒツジ血液寒天培地に 8mm コルクボーラーで穴を開け、漢方方剤を滴下後、オーバーナイト培養し、発育阻止円形成の有無を確認した。また、黄色ブドウ球菌、大腸菌、クレブシエラをミュラー・ヒントン培地に塗布して、発育阻止円形成の有無を同様に確認した。

発育阻止円が確認された漢方方剤については、最小発育阻止濃度 (MIC) ならびに最小殺菌濃度 (MBC) を測定した。

(2) 自然免疫細胞に対する作用の解析

野生型マウスより分離した骨髄細胞から骨髄由来マクロファージ (BMMs) および骨髄由来樹状細胞 (BMDCs) を誘導して作製し、検討対象の漢方方剤を添加して培養後、培養上清中のサイトカイン産生を測定した。

また、細胞障害の評価のため、培養後の細胞について Cell viability を測定した。

(3) 漢方代謝産物による Sp ならびに自然免疫細胞に対する作用の解析

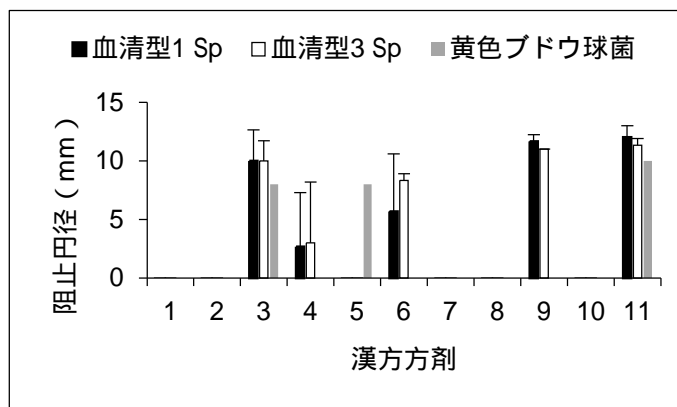
漢方方剤をマウスに強制摂取させた後に血清を採取し、漢方代謝産物とした。漢方代謝産物を用いて Sp に対する発育阻止円形成の有無を確認した。また、漢方代謝産物を BMMs または BMDCs に添加して培養後、培養上清中のサイトカイン産生を測定した。

4. 研究成果

(1) 検討対象漢方方剤の Sp などの細菌に対する発育阻止能を明らかにするため、発育阻止円形成の有無を調べた。

検討対象の漢方方剤の内 3 種で、Sp の血清型に依存しない発育阻止円の形成が確認された。これら 3 種は、薬剤耐性 Sp に対しても同様に、発育阻止円を形成した。黄色ブドウ球菌に対しては検討対象の漢方方剤の内 3 種で、発育阻止円の形成が確認された。いずれの検討対象の漢方方剤も、グラム陰性菌である大腸菌やクレブシエラに対しては、発育阻止円を形成しなかった。

MIC、MBC の結果から、Sp に対しては殺菌的、黄色ブドウ球菌に対して静菌的に作用していることが明らかになった。



(2) 自然免疫細胞に対する漢方方剤の作用を明らかにするため、BMMs および BMDCs を漢方方剤で刺激し、培養後の上清についてサイトカイン産生を測定した。これより、濃度依存的な TNF および IL-6 の産生が認められた。一方、IL-1b、IL-10 はそれぞれ検出限界以下で、産生は確認されなかった。また、いずれの漢方方剤で刺激した後の細胞についても、Cell viability の低下は認められなかった。

(3) 漢方代謝産物の細菌に対する発育阻止能を明らかにするため、漢方代謝産物による発育阻止円の形成を確認した。漢方代謝産物では、いずれの細菌に対しても発育阻止円を形成しなかった。次に、漢方代謝産物の自然免疫細胞に対する作用を明らかにするため、BMMs および BMDCs と培

養したところ、IL-1b の濃度依存的な産生が認められたのに対し、TNF および IL-6 の産生には違いがないことが明らかになった。また、いずれの漢方代謝産物で刺激した後の細胞についても、Cell viability の低下は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimasaki Noriko, Kuwahara Tomoko, Nishijima Haruna, Nakamura Kazuya, Sato Kayoko, Murano Keiko, Itamura Shigeyuki, Akahori Yukiko, Takashita Emi, Kishida Noriko, Arita Tomoko, Nakauchi Mina, Takeda Makoto, Hasegawa Hideki, Ryo Akihide, Harada Yuichi	4. 巻 77
2. 論文標題 Establishment of Reference Reagents for Single-Radial-Immunodiffusion Assay on the 2022/23 Seasonal Influenza Vaccine in Japan and Their Quality Validation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 105 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2023.218	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------