

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590889

研究課題名(和文)漢方薬「排膿散及湯」のMRSA重症感染症に対する有効性の解析

研究課題名(英文)Analysis of the effect of Hainosankyuto against MRSA infection

研究代表者

南 正明(MINAMI, MASA AKI)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：70418739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：抗菌剤治療の困難なメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)重症感染症に対する漢方薬・排膿散及湯の治療効果を検討した。排膿散及湯を添加したLB液体培地でMRSAを培養すると、無添加LB液体培地と比較して、二次元電気泳動での解析では、菌体外毒素の量が減少していた。MRSA皮下感染マウスに排膿散及湯を投与した場合、無投与マウスと比較して、有意な生存率の上昇、皮膚潰瘍径の減少を認めた。排膿散及湯投与マウスから採取した腹腔内マクロファージの、MRSAに対する貪食能は、無投与マウスと比較して、有意に上昇していた。排膿散及湯はMRSA重症感染症の新規治療薬として強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether Japanese traditional medicine, Hainosankyuto affect the cure of MRSA severe infection disease. In two-dimensional electrophoresis analysis, we found that the amount of extra virulent proteins from MRSA in LB with Hainosankyuto were decreased compared to those in LB. We also found the significant improvement of survival rate and cutaneous ulcer formation in Hainosankyuto-treated mouse after MRSA subcutaneous infection. Furthermore we confirmed that the phagocytosis ability of mouse peritoneal macrophage treated with Hainosankyuto was significantly greater than that without it. We suggested that Hainosankyuto is the candidate of novel anti-MRSA infectious treatment.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科学一般(含心身医学)

キーワード：東洋医学

1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌は、様々な菌体外毒素を分泌し、様々な重症感染症を引き起こす病原細菌である。この中で特に問題となるのが、多剤耐性を示す黄色ブドウ球菌(MRSA)であり、新規治療薬の開発が望まれている。排膿散及湯は江戸時代の漢方医吉益東洞の作成した吉益東洞経験方に記載のある処方であり、患部が発赤、腫脹して疼痛をともなった化膿症が適応である。この排膿散及湯の適応疾患が、MRSAを含む黄色ブドウ球菌による化膿性感染症疾患に一致するため、排膿散及湯がMRSA感染症治療薬となりうる事が予想される。

2. 研究の目的

今回我々は排膿散及湯の MRSA 重症感染症に対する効果について、(1) 排膿散及湯の直接的な抗菌効果、(2) 排膿散及湯の菌体外毒素分泌の抑制効果、(3) 排膿散及湯投与マウスの MRSA 感染に対する影響、(4) 排膿散及湯投与マウス腹腔内マクロファージの MRSA に対する貪食能について検討を行った。

3. 研究の方法

(1) 排膿散及湯のエキス粉末を MilliQ 水で溶解して、排膿散及湯を作成して、排膿散及湯の MRSA 株に対する抗菌効果を微量液体希釈法と濁度で測定した。

表 1 排膿散及湯の組成

生薬	含有量
桔梗	4.0 g
甘草	3.0 g
枳実	3.0 g
芍薬	3.0 g
大棗	3.0 g
生姜	1.0 g

(2) 排膿散及湯を添加した、LB 液体培地で MRSA 株を 1 日培養して、培養上清をろ過濃縮して、2 次元電気泳動法で分離されたタンパク質のスポットの増減の変化を比較検討した。

(3) MRSA 株を感染させた 3 週齢 ICR マウスを用いて、経口的に排膿散及湯を投与した場合としない場合とで MRSA 感染に対する治療効果を生存率の差で比較した。投与期間は MRSA 感染前日から、感染 3 日後までとした。また局所感染の評価は、感染マウスの潰瘍径の大きさで比較検討した。

(4) 排膿散及湯マウス由来の腹腔内マクロファージを抽出して、MRSA と共培養して、3

0 分後、60 分後の混合サンプルを羊血液寒天培地にまいて、1 日培養後の菌のコロニー数を計測することで、腹腔内マクロファージの貪食能の効果を検討した。

4. 研究成果

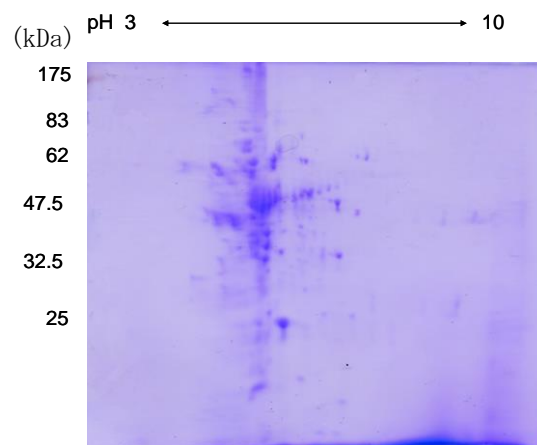
(1) 排膿散及湯 1g/L の濃度でも MRSA 菌株への抗菌活性は認めなかった。

表 2 排膿散及湯の MRSA に対する抑制効果

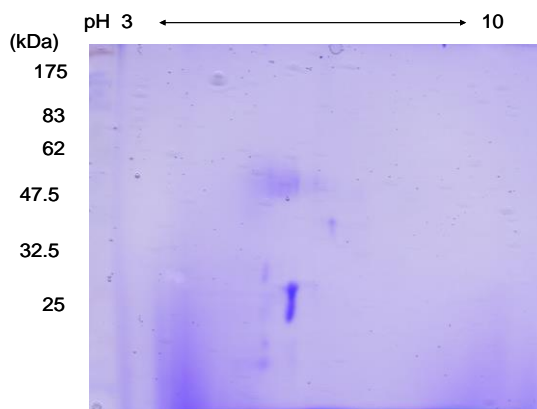
	排膿散及湯 (g/L)			
	10	1	0.1	0
O.D. 600nm	0.901	0.801	0.75	0.748

(2) 2 次元電気泳動では、排膿散及湯を添加した LB 液体培地では、無添加培地と比較して、菌体外毒素の量が減少していた。

図 1 二次元電気泳動による菌体外蛋白分泌の比較



排膿散及湯 (-)



排膿散及湯 (+)

(3) 排膿散及湯投与マウスでは、無投与マウスと比較して、生存率の上昇、皮膚潰瘍径の減少を認めた。

図2 MRSA 感染マウスの生存曲線の比較

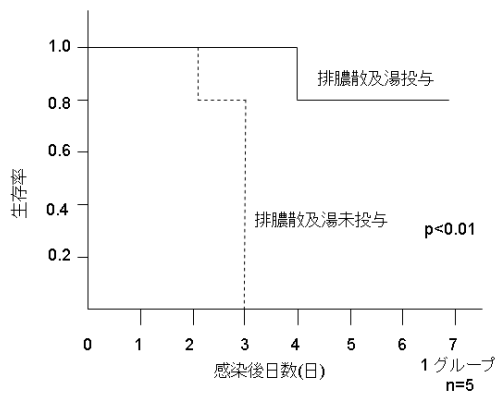


図3 MRSA 感染に対するマウス皮膚潰瘍の比較



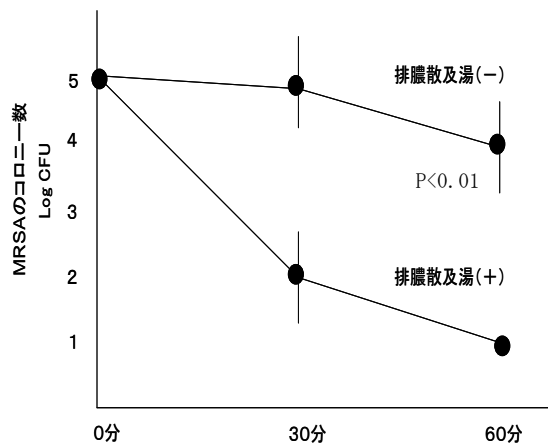
排膿散及湯 (-)



排膿散及湯 (+)

(4) コントロールマウス由来の腹腔内マクロファージと比べて、排膿散及湯マウス由来の腹腔内マクロファージでは、有意に共培養した MRSA のコロニー数が減少した。このことから排膿散及湯マウス由来の腹腔内マクロファージの貪食能が上昇していることが示唆された。

図4 マウス腹腔内マクロファージ貪食能の比較



以上の結果から、排膿散及湯は、細菌の菌体外毒素を減少させるだけでなく、宿主の免疫担当細胞を活性化することで、複数経路からの重症細菌感染所に対する治療効果を上昇させていくことが推測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 南正明、マウス DSS 腸炎に対する腸癰湯の影響、第 30 回和漢医薬学会学術大会、2013 年 8 月 31 日～9 月 1 日、金沢大学 (石川県)
- ② 南正明、排膿散及湯の MRSA 感染に対する有効性の検討、第 29 回和漢医薬学会学術大会、2012 年 9 月 1 日～2 日、北里大学 (東京都)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

国内外の別:

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南 正明 (Minami Masaaki)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号： 70418739

(2)研究分担者

長谷川 忠男 (Hasegawa Tadao)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号： 10314014