

2002年度日中医学協会共同研究等助成事業報告書

— 調査・共同研究に対する助成 —

2003年3月12日

財団法人 日中医学協会
理事長 殿

研究代表者氏名 辻 明良 

所属機関名 東邦大学医学部看護学科

部署・役職 教授

所在地 143-0015 東京都大田区大森西4-16-20

電話 03-3762-9881 内線 324

1. 研究テーマ

レジオネラ感染に対する漢方薬の予防効果に関する基礎研究

2. 研究期間 自 2002年 5月 1日 ~ 至 2002年 3月 15日

3. 研究組織

日本側研究者氏名 辻 明良

所属機関 東邦大学医学部看護学科 職名 教授

中国側研究者氏名 李 香華

所属機関 中日友好病院 職名 看護部長

4. 研究報告書

別紙「研究報告書の作成について」の体裁に倣い、指定の用紙で作成し添付して下さい。

※研究成果を発表する場合は、発表原稿・抄録集等も添付して下さい。

※発表に当っては、日中医学協会助成金による旨を明記して下さい。

レジオネラ感染に対する漢方薬の予防効果に関する基礎研究

研究者氏名	辻 明良
日本研究機関	東邦大学医学部看護学科感染制御学
共同研究者氏名	李 秀華
中国所属機関	中日友好病院看護部

要旨

レジオネラ感染症は環境中に存在する*Legionella pneumophila*を含んだエアロゾルを吸引することによって感染する。日本において、給水・給湯水、冷却塔水、循環式浴槽、加湿器、蓄熱槽、温泉水、修景用水などのレジオネラ汚染が注目されている。*L. pneumophila*は日和見感染菌として、感染抵抗性の減弱した宿主（いわゆるcompromised host）に感染するのが特徴で、とくに高齢者、乳幼児などの呼吸器感染症（肺炎）の重要な原因菌の一つである。今回、生薬および漢方薬の*L. pneumophila*に対する抗菌作用を臨床分離株と環境分離株について検討し、また同様に*Staphylococcus aureus*、*Escherichia coli*、*Serratia marcescens*、*Pseudomonas aeruginosa*の標準株についても検討した。分与された生薬11種のうち、*L. pneumophila*に対する抗菌作用を示したのが、*Daucus carota*（カクシツ）、*Coptis japonica*（オウレン）、*Phellodendron amurense*（オウバク）、*Aster tataricus*（シオン）、*Cornus officinalis*（サンシュユ）、*Paeonia lactiflora*（ハクシャクヤク）、*Aralia cordata*（ドクカツ）、*Citrus aurantium*（キジツ）であった。とくに*Daucus carota*（カクシツ）は著明な効果を示した。*Coptis japonica*（オウレン）、*Phellodendron amurense*（オウバク）、*Citrus aurantium*（キジツ）では*E. coli*に対し、*Cornus officinalis*（サンシュユ）、*Paeonia lactiflora*（ハクシャクヤク）は*S. aureus*と*P. aeruginosa*に抗菌作用が認められた。中国産の金銀花、野菊花、敗醬、紫花地丁、ジャスミン茶は*L. pneumophila*に対し抗菌作用を認め、金銀花、黄柏、苦参は*E. coli*、*S. marcescens*に弱いながらも抗菌作用が認められ、ジャスミン茶は*S. aureus*に抗菌作用を示した。

Key Words レジオネラ、生薬、抗菌作用、黄色ブドウ球菌、大腸菌、セラチア、緑膿菌

緒言

*Legionella pneumophila*は通常水中や湿った土壌中などの環境に広く分布し、とくに水系に混入し、藍藻類やアメーバなどと共生して増殖する。また、日本においては給水・給湯水、冷却塔水、循環式浴槽、加湿器、蓄熱槽、温泉水、修景用水などのレジオネラ汚染が注目され、そのエアロゾルを吸引することにより感染する。*Legionella pneumophila*は日和見感染菌として、感染抵抗性の減弱した宿主（いわゆるcompromised host）に感染するのが特徴で、とくに高齢者、乳幼児などの呼吸器感染症（肺炎）の重要な原因菌の一つである。今回、生薬および漢方薬の*L. pneumophila*に対する抗菌作用を臨床分離株と環境分離株について検討し、また同様に*Staphylococcus aureus*、*Escherichia coli*、*Serratia marcescens*、*Pse-*

*udomonas aeruginosa*の標準株についても検討した。

材料と方法

生薬と漢方薬：生薬11種、*Artemisia capillaris* (インチンコウ)、*Daucus carota* (カクシツ)、*Coptis japonica* (オウレン)、*Digenea simplex* (ゴシュユ)、*Glycyrrhiza uralensis* (カンゾウ)、*Phellodendron amurense* (オウバク)、*Aster tataricus* (シオン)、*Cornus officinalis* (サンシュユ)、*Paeonia lactiflora* (ハクシャクヤク)、*Aralia cordata* (ドクカツ)、*Citrus aurantium* (キジツ) は東邦大学薬学部生薬学・二階堂保教授より分与され、生薬(刻み) 10gを熱水100mlで1時間抽出したものである。抗菌試験には粉末40mg/mlと4mg/mlを使用した。金銀花、黄柏、苦参、野菊花、梔子、敗醬、魚腥草、紫花地丁、ジャスミン茶の9種は中国から入手し、生薬5gを50mlの熱水で抽出し、ミリポアーフィルターでろ過除菌した。抗菌試験には原液と1/3希釈液を使用した。

使用菌株：*L. pneumophila* 4株のうち、臨床分離株の *L. pneumophila* TY-R2, *L. pneumophila* TY-R5 は東邦大学医学部山口恵三教授より分与されたもので、環境分離株の *L. pneumophila* LG1802, *L. pneumophila* LG1860は三菱化学BCLの小林寅詰博士より分与されたものである。また、*S. aureus* ATCC25923, *E. coli* ATCC25922, *S. marcescens* ATCC8100, *P. aeruginosa* ATCC27853は本感染制御学研究室に保存しているものを使用した。

抗菌試験：*L. pneumophila*の培地として、B-CYE α (buffered charcoal yeast extract supplemented with α -ketoglutarate) 寒天培地(pH 6.9、自家調整)およびWY0 α 培地(栄研)を用いた。また、*S. aureus*, *E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*に対してはMueller-Hinton培地(Difco)を用いた。

*L. pneumophila*については、B-CYE α 培地に35 $^{\circ}$ C 4日間培養して得た集落を1 McFarland (10 8 cfu/ml)になるよう調整した。他の菌種ではMHAで35 $^{\circ}$ C 18時間培養して得た集落を10 8 cfu/mlになるよう調整した。この菌液を用い、*L. pneumophila*ではB-CYE α 培地に接種し、コンラージした後、滅菌ペニシリンカップを置き、その中に検液を入れ、35 $^{\circ}$ C 4日間培養し、生じた阻止円径を測定した。一般細菌については、MHAに接種し、同様に35 $^{\circ}$ C 20時間培養し、生じた阻止円を測定した。抗菌効果の認められた生薬については、菌接種後、経時的(1, 2時間)に生菌数を測定した。

結果

分与された生薬11種の *L. pneumophila*に対する抗菌作用の成績を表1に示した。40mg/mlの作用させた *Daucus carota* (カクシツ)、*Coptis japonica* (オウレン)、*Phellodendron amurense* (オウバク)、*Aster tataricus* (シオン)、*Cornus officinalis* (サンシュユ)、*Paeonia lactiflora* (ハクシャクヤク)、*Aralia cordata* (ドクカツ)、*Citrus aurantium* (キジツ) に抗菌作用が認められ、とくに *Daucus carota* (カクシツ) で著明であった。*S. aureus* ATCC25923, *E. coli* ATCC25922, *S. marcescens* ATCC8100, *P. aeruginosa* ATCC27853に対する成績は表2に示した。*Coptis japonica* (オウレン)、*Phellodendron amurense* (オウバク)、*Citrus aurantium* (キジツ) では *E. coli* に対し、*Cornus officinalis* (サンシュユ)、*Paeonia lactiflora* (ハクシャクヤク) は *S. aureus* と *P. aeruginosa* に抗菌作用が認められた。

中国産の9種の生薬については、金銀花、野菊花、敗醬、紫花地丁、ジャスミン茶は *L. pneumophila* に対し抗菌作用が認め(表3)、金銀花、黄柏、苦参は *E. coli*, *S. marcescens* に弱いながらも抗菌作用が認められ、ジャスミン茶では *S. aureus* に抗菌作用を示した(表4)。

表1 *Legionella pneumophila* に対する生薬の抗菌作用

生薬	4.0mg/ml	<i>L. pneumophila</i>			
		TY-R2	TY-R5	LG1802	LG1860
<i>Artemisia capillaris</i>	インチンコウ	—	—	—	—
<i>Daucus carota</i>	カクシツ	+++	+++	+++	+++
<i>Coptis japonica</i>	オウレン	++	++	+	+
<i>Digenea simplex</i>	ゴシュユ	—	—	—	—
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	カンゾウ	—	—	—	—
<i>Phellodendron amurense</i>	オウバク	+	+	++	+
<i>Aster tataricus</i>	シオン	—	++	+	+++
<i>Cornus officinalis</i>	サンシュユ	—	+	+	+
<i>Paeonia lactiflora</i>	ハクシャクヤク	+	+	+	+++
<i>Aralia cordata</i>	ドクカツ	+	+	—	++
<i>Citrus aurantium</i>	キジツ	+	+	+	+
次亜塩素酸ナトリウム	0.5%	+++	+++	+++	+++
	0.05%	++	+++	++	+++
ポビドンヨード	10%	+	+++	+++	+++
	1%	+	+	+	—
阻止円径		+++ : >21.0mm		++ : 15.0-20.0mm	
		+ : 8.0 - 14.0mm		— : <8mm	

表2 各種細菌に対する生薬の抗菌作用

生薬	4.0mg/ml	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>P. aeruginosa</i>
		ATCC25923	ATCC25922	ATCC8100	ATCC27853
<i>Artemisia capillaris</i>	インチンコウ	—	—	—	—
<i>Daucus carota</i>	カクシツ	—	—	—	—
<i>Coptis japonica</i>	オウレン	—	+++	—	—
<i>Digenea simplex</i>	ゴシュユ	—	—	—	—
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	カンゾウ	—	—	—	—
<i>Phellodendron amurense</i>	オウバク	—	+	—	—
<i>Aster tataricus</i>	シオン	—	—	—	—
<i>Cornus officinalis</i>	サンシュユ	+	—	—	+
<i>Paeonia lactiflora</i>	ハクシャクヤク	+	—	—	+
<i>Aralia cordata</i>	ドクカツ	—	—	—	+
<i>Citrus aurantium</i>	キジツ	—	+	—	—
次亜塩素酸ナトリウム	0.5%	+++	+++	+++	+++
	0.05%	++	—	—	++
ポビドンヨード	10%	+++	+	+++	+
	1%	++	—	—	—
阻止円径		+++ : >21.0mm		++ : 15.0-20.0mm	
		+ : 8.0 - 14.0mm		— : <8mm	

表3 *Legionella pneumophila* に対する生薬の抗菌作用

生 薬		<i>L. pneumophila</i>		
		LY-R2	LG1802	LG1860
金銀花 (中国産)	原液	++	++	++
	1/3希釈液	+	+	+
黄柏 (中国産)	原液	-	+	-
	1/3希釈液	-	-	-
苦参 (中国産)	原液	-	-	-
	1/3希釈液	-	-	-
野菊花 Yejuhua (中国産)	原液	++	++	+++
	1/3希釈液	+	+	+
梔子 Zhizi (中国産)	原液	+	+	+
	1/3希釈液	-	-	-
敗醤 Baijiang (中国産)	原液	+++	+++	+++
	1/3希釈液	+	+	+
魚腥草 Yuxingcao (中国産)	原液	+	-	-
	1/3希釈液	-	-	-
紫花地丁 Zihuadiding (中国産)	原液	+++	++	++
	1/3希釈液	-	-	-
ジャスミン茶 [中国産]	原液	++	++	++
	1/3希釈液	+	-	-

阻止円径 +++ : >21.0mm ++ : 15.0-20.0mm
 + : 8.0 - 14.0mm - : <8mm

表4 各種細菌に対する生薬の抗菌作用

生 薬		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>P. aeruginosa</i>
		ATCC25923	ATCC25922	ATCC8100	ATCC27853
金銀花 (中国産)	原液	-	+	+	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
黄柏 (中国産)	原液	-	+	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
苦参 (中国産)	原液	-	+	+	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
野菊花 Yejuhua (中国産)	原液	-	-	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
梔子 Zhizi (中国産)	原液	-	+	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
敗醤 Baijiang (中国産)	原液	-	-	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
魚腥草 Yuxingcao (中国産)	原液	-	-	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
紫花地丁 Zihuadiding (中国産)	原液	-	-	-	-
	1/3希釈液	-	-	-	-
ジャスミン茶 [中国産]	原液	+	-	-	-
	1/3希釈液	+	-	-	-

阻止円径 +++ : >21.0mm ++ : 15.0-20.0mm
 + : 8.0 - 14.0mm - : <8mm

考察

漢方生薬の科学化の方策として各生薬の微生物に対する作用が検討されてきており、成分の中には抗菌作用を示す物質が含まれていると報告されている。私はこれまで抗菌薬の開発、抗菌薬の抗菌評価について研究してきた。この経験を生かし生薬の抗菌作用に注目し再確認したいと考え、高齢者など易感染宿主に感染するレジオネラを中心に検討した。分与された生薬11種のうち、*L. pneumophila*に対する抗菌作用を示したのが、*Daucus carota* (カクシツ)、*Coptis japonica* (オウレン)、*Phellodendron amurense* (オウバク)、*Aster tataricus* (シオン)、*Cornus officinalis* (サンシュユ)、*Paeonia lactiflora* (ハクシヤクヤク)、*Aralia cordata* (ドクカツ)、*Citrus aurantium* (キジツ)であった。とくに*Daucus carota* (カクシツ)は著明な効果を示した。*Coptis japonica* (オウレン)、*Phellodendron amurense* (オウバク)、*Citrus aurantium* (キジツ)では*E. coli*に対し、*Cornus officinalis* (サンシュユ)、*Paeonia lactiflora* (ハクシヤクヤク)は*S. aureus*と*P. aeruginosa*に抗菌作用が認められた。中国産の金銀花、野菊花、敗醬、紫花地丁、ジャスミン茶は*L. pneumophila*に対し抗菌作用が認められた。また、金銀花、黄柏、苦参は*E. coli*、*S. marcescens*に弱いながらも抗菌作用が認められ、ジャスミン茶では*S. aureus*に抗菌作用を示した。現在、*L. pneumophila*を含む各種細菌のバイオフィルム(Biofilm)形成菌について検討しており、その結果を各種学会に発表予定である。抗菌薬耐性菌に対する生薬の有用性についても期待される。今後、各種生薬の有効成分の解析および臨床応用における予防効果についてさらに検討し貢献したい。

文献

- 1) 国家中医药管理局〈中华本草〉編委会：中华本草、上海科学技术出版社
- 2) レジオネラ症 1999.4-2002.12、病原微生物検出情報(月報)、24(No.276):27-36, 2003
- 3) 華原龍津：中国薬用資源の現状と課題、防菌防黴、29(8):517-523, 2001
- 4) 中井康雄：微生物感染症に於ける漢方処方考の考察、主として生薬の抗菌作用との関係、漢方の臨床、44(4):467-479, 1997
- 5) 李 秀華：Legionella pneumophilaの感染要因の検討—環境由来および臨床由来*L. pneumophila*の発育温度域、熱抵抗性、消毒薬感受性とマウスに対する菌カー、杏林医学会雑誌、33(1):23-32, 2002
- 6) 帖佐 浩、戸田真佐子、大久保幸枝、原 征彦、島村忠勝：茶およびカテキンのマイコプラズマに対する抗菌・殺菌作用。感染症学雑誌、66:606-611,1992
- 7) 戸田真佐子、大久保幸枝、原 征彦、島村忠勝：Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*に対するカテキンの抗菌・殺菌作用、日本細菌学雑誌、46(5):839-845,1991

作成日:2003年 3月12日