

〔特別講演〕

ポリペプチド抗生物質について

大谷 象平

大阪市立大学医学部

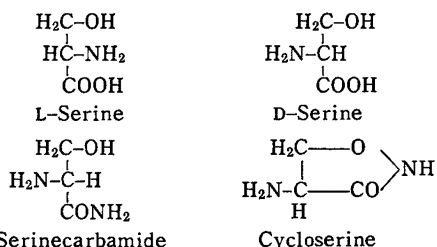
生体の構成成分として特殊な意味をもつ蛋白質と、これを構成するアミノ酸に関しては、相当豊富な知識が先人の業績によつて、残されているにかかわらず、構造上その中間に位すると考えられるペプチッドに関しては、非常に僅かな知識しか持つていないのが現状であろう。数種のホルモンが蛋白質系統のものであることは知られていたが、構造に関して明確な記載のあるのは、僅にカルノジン、アンゼリン、グルタチオンの3者のみであつた。最近物理化学的方法が微量のアミノ酸の分離、定量に導入せられるとともに、蛋白質の分子構造の研究に化学的方法が用いられる可能性が生れると同時に、蛋白質より分子の小さいペプチッドの化学構造の研究が勃興したのは当然のことと考えられる。

英国においてはインスリン、米国に於ては脳下垂体ホルモンの研究が行われ、そのうち Oxytocin, Vasopressin は一昨年米国に於てその構造を完全に決定することに成功した。

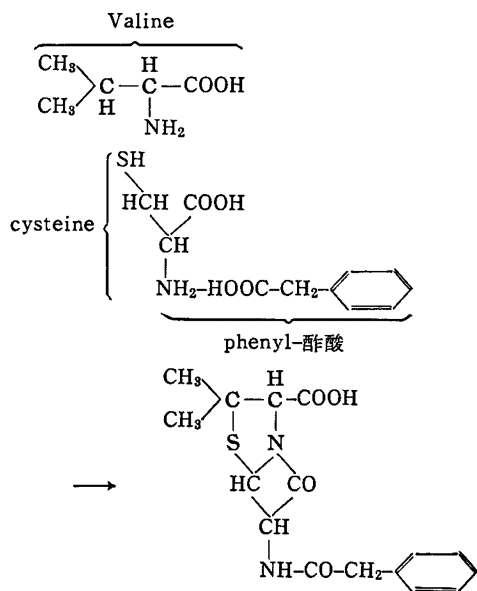
一方、最初の抗生物質として発見されたペニシリンが、今日から考えると特殊な tripeptide であり、蛋白質分子の化学構造の研究の発端となつた。SYNGE, SANGER 等の選んだ研究材料が Gramicidin S であつたことは、抗生物質のなかに、構造上ペプチッドに属するものが存在することを暗示するもので、事実、今日多くの抗菌性ペプチッドの存在が報告せられ、又その化学構造が研究されている。したがつてペプチッドは自然界に非常に広い分布をもつて存在するもので、動物界にはホルモンとして、植物界には抗生物質として、その一角があらわれているといつても過言ではないと思われる。構造的にも蛋白質に相当する各種のペプチッドが報告され、単純蛋白質に相当するアミノ酸のみから構成されるもの、色素蛋白に相当する色素を含んだペプチッド、lipoprotein に相当する脂肪酸と結合したもので、核蛋白質に相当する核酸類似のペプチッドが報告されている。なお、これらペプチッドは凡べて、生理作用を有し、生理作用と分子構造の研究には恰好の材料であることが注目されている。

今、上記の抗菌性ペプチッドのうち、構造の判明しているものに就て述べたいと思う。抗生物質のうちでペプチッドではないが、アミノ酸に関係のあるものとして最

も構造の簡単なものは Cycloserine である。蛋白質中の Serine は L 型であるが、Cycloserine は D 型の Serine の Carbamide から 2 原子の水素が遊離し環状の構造になつたものと考えられる。



Penicillin も上述の如く構造的には Valine, 及び Cysteine を含む特殊なペプチッドと解釈されている。この考えは最近英国の ARNSTEIN の同位元素で labell したアミノ酸を用いた生合成の研究によつて裏づけられた。



次に5種のアミノ酸から構成せられるものとしては Gramicidin S, Gramicidin J₁, Gramicidin J₂ がある。Gramicidin と名付けられた最初の抗菌性ペプチッドは、DUBOS によつて発見されたものであるが、このペプチッ

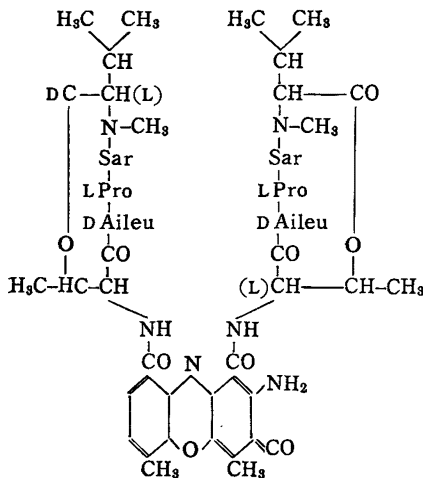
isoleucine のアミノ基が脱アミノされると考えられる。

Lipoprotein に相当する脂肪酸を含有したペプチッドのなかで、Colistin 及び Viscosin の構造が明らかとなった。何れも我国に於て発見され Viscosin は土岐、大野により、Colistin は鈴木により化学構造の研究が行なわれたものである。次のようなアミノ酸組成並に構造を有するものと報告されている。

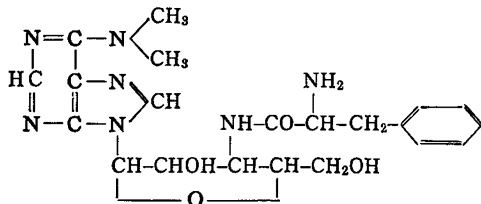
Viscosin は酸性のペプチッドであるが、Colistin の方は塩基性の性質を有するもので Polymyxin 類似の抗菌性ペプチッドである。

色素を含有した chromopeptide とも称すべきものに Actinomycin がある。Actinomycin 群には現在 11 種類の類似ペプチッドが報告されているが、そのうち Actinomycin C₈ の構造が BROCKMANN によつて報告された、その組成並に構造式は次の如きものと考えられている。

Thr×2 Sarkosin×2 Pro×2 W-methylvaline×2
Allo-isoleu×2 NH₃×1 desamino-actinocin×1



プリン塩基を含有し核酸と類似の構造をもつものとしては Puromycin がある。米国に於て発見、完全合成の結果、構造は次のように決定された。



その他、最近 Alazopectin, Nucleocidin と命名されたものが報告され、何れも核酸類似のものと考えられるが、その構造は明らかでない。

次にこれら抗菌ペプチッドの化学構造とその生理作用

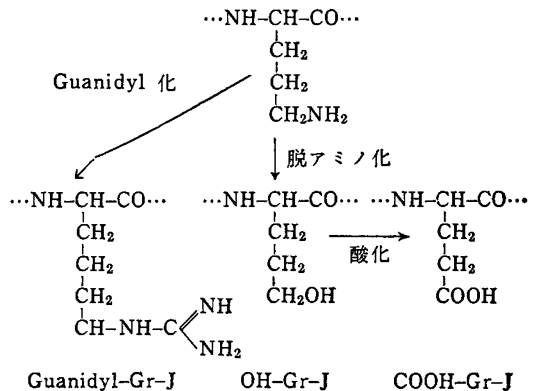
との関係を述べるべきであるが、一般抗生物質の作用機序と同様、現在の我々の知識は殆んど推測の域を脱しない。これら抗菌性ペプチッド分子中に非天然型アミノ酸の存在する事実及び多くの抗菌性ペプチッドが環状構造をもつことが、抗菌性と関係のあるように最初考えられたが、のちに発表せられた KATCHALSKY の合成ペプチッドの研究から考えると、上の条件は必ずしも抗菌力とは直接の関係を考えることはできない。KATCHALSKY は多くの Poly-amino 酸を合成しているが、そのうち Polylysine, Polyornithine について、その抗菌力を検討したが、次に示すように天然型の lysine でも相当数 (30~35) 重合したものは相当強力な抗菌力をもつようになる。又、上述の Viscosin は環状構造を有していない、即ちペプチッドが環状の構造をもつために抗菌性が生じるとは考えにくい。

第 2 表

peptide	test organism	
	<i>E. coli</i> µg/ml	<i>Staph. aureus</i>
Di-L-lysine-HCl	450	
tri-L-lysine-HCl	150	
tetra-L-lysine-HCl	75	
Poly-L-lysine-HCl (n=30~35)	2.5	0.5~1.0
Poly-DL-lysine-HCl (n=30~35)	5	3
Poly-DL-ornithine-HCl (n=27)	10	5
Poly-DL-ornithine-sulfate (n=27)	10	5

我々の研究室でも Gramicidin-J の作用機序の研究を行っているが、まだやりはじめばかりで確定的な事は言えないが、成績を述べたいと思う。

Gramicidin J₁ 及び J₂ は、化学的に反応しやすい原子団としては ornithine の δ の位置のアミノ基が遊離に存在する。我々はこの遊離アミノ基の誘導体を作り、強塩基性、中性、酸性の環状ペプチッドを純粋に分離することができた。



Guanidyl-Gr-J OH-Gr-J COOH-Gr-J

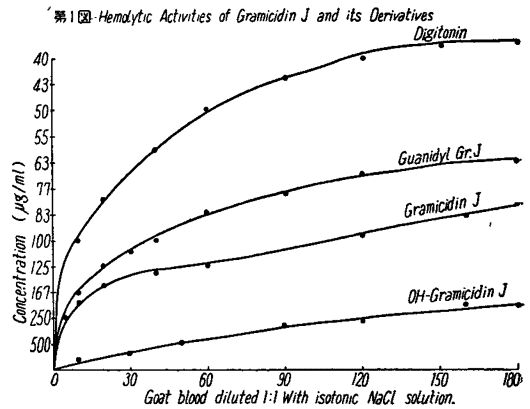
即ち, Gramicidin J を Guanidyl 化して Ornithine の代りに Arginine 分子を含有する強塩基性の Gramicidin J を脱アミノ化することによつて中性のものを得、これを更に酸化することによつて Ornithine の代りに Glutamin 酸を含有する酸性の環状ペプチドを合成することができた。Gramicidin から誘導されたこの3種の環状ペプチドともとの Gramicidin J とを用い、その生理作用、即ち抗菌力、溶血価を検して、次の結果を得た。

即ち、抗菌力は毒性と平行して減弱し、Gramicidin J の抗菌力に関しては分子中の ornithine の δ の位置のアミノ基が遊離であることが可成有力な条件であると思われる。又、Ornithine J 分子中には親水性基(-CO-NH-, -NH₂)及び疎水性基(ornithine 以外のアミノ酸残基)が共存し、且つ非常に強力な表面活性物質である。この関係は、今盛んに利用されている detergent と一致し、特殊な「正」に荷電する detergent と考えることができる。

以上の考えのもとに Gramicidin J₂ と、通常の黄色葡萄状球菌、Gramicidin J₂-抵抗性黄色葡萄状球菌(30

代、30 μg/ml)及び大腸菌との関係を検した。

第一に、通常の黄色葡萄状球菌は Gramicidin J により短時間でグラム陽性が失われる。Gramicidin J は黄色葡萄状球菌、抵抗菌、及び大腸菌の夫々の菌体表面に吸着されるが、抵抗菌は黄色葡萄状球菌(感受性菌)の半量しか吸着していない。次に示す数値は pH 7.0 の菌体浮游液に 37°C で2時間 50 μg/ml の濃度に Gramicidin J に作用せしめた場合の菌表面に吸着したと考え



第 3 表 Antimicrobial Spectrum of Gramicidin J and Its Derivatives (Minimum Inhibitory Concentrations μg/ml)

Species	Strain	Gramicidin J	Granidyl-G. J.	OH-G. J	COOH-G. J
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	209 P	0.25	0.25	1.0	50.0
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	Terajima	0.50	0.50	2.5	50.0
<i>Micrococcus tetragenes</i>		0.25	0.50	1.0	50.0
<i>Bacillus subtilis</i>	PCI 403	0.25	0.35	2.0	65.0
<i>Bacillus subtilis</i>	K	0.25	0.35	2.0	65.0
<i>Bacillus subtilis</i>	NRRL 558	0.25	0.35	2.0	65.0
<i>Bacillus magaterium</i>		0.25	0.25	1.0	45.0
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	607	2.5	5.0	10.0	50.0
<i>Mycobacterium avium</i>	Takeo	5.0	5.0	5.0	50.0
<i>Mycobacterium phlei</i>	Timothée	2.5	2.5	10.0	30.0
<i>Escherichia coli</i>	Biken	35.0	35.0	80.0	80.0
<i>Escherichia coli</i>	Shidai	30.0	45.0	100.0	100.0
<i>Escherichia coli</i>	α 0111	15.0	30.0	80.0	100.0
<i>Escherichia coli</i>	β 055	15.0	30.0	90.0	100.0
<i>Proteus vulgaris</i>	OX 2	50.0	65.0	80.0	90.0
<i>Proteus vulgaris</i>	OX 19	20.0	35.0	45.0	75.0
<i>Proteus vulgaris</i>	HX 19	40.0	50.0	65.0	80.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ohara C	30.0	45.0	55.0	90.0
<i>Salmonella typhi</i>	H 901 W	55.0	70.0	75.0	85.0
<i>Salmonella paratyphi</i> A	1015	70.0	80.0	75.0	85.0
<i>Salmonella paratyphi</i> B	8006	80.0	90.0	80.0	85.0
<i>Salmonella typhi</i> murium	1046	60.0	70.0	80.0	85.0
<i>Shigella flexneri</i>	Komagome BIII	20.0	35.0	70.0	75.0
<i>Candida albicans</i>	FIA 1002	8.0	15.0	30.0	90.0

第 4 表

被 検 菌	乾燥菌体 1mg に吸着された Gr-J 量 μg
黄色葡萄状球菌 (209 P)	
感受性菌	264
抵抗菌	140
大腸菌	228

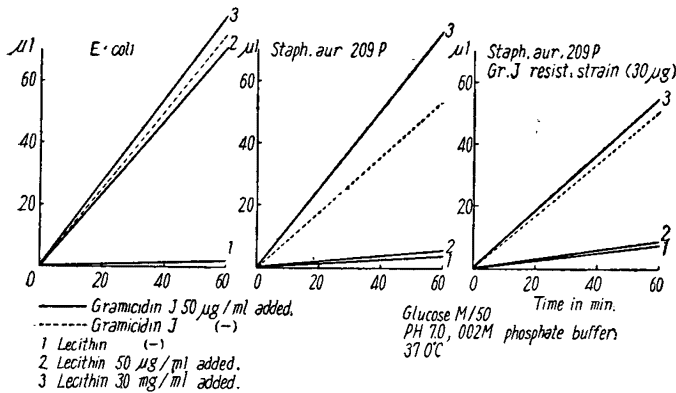
られる Gramicidin J の量である。

大腸菌が Gramicidin J に対して感受性が少いにもかかわらず、吸着量が多いのは後に述べるように、菌体の phospholipid 含量が多いことによると考えられる。

吸着が、細胞表面への単なる吸着か、又は更に深く菌体内に浸入するものかは不明である。表面活性で「正」に荷電する抗菌性ペプチッドである Polymixen E の作用機序に関する FEW 及び NEWTON の研究によると、Polymixen E は細胞壁又はその内側に選択的に吸着され、その場所の Phospholipid と結合しているものと考えられている。

Gramicidin J についても、同様の結果を予想するので、Gramicidin J と菌体 lecithin との関係を検べた。

第2図 Effect of phospholipid on the inhibition by Gramicidin J upon the glucose oxidation by bacteria



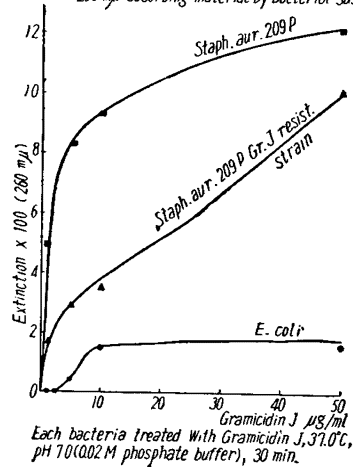
Gramicidin J は細菌の葡萄糖酸化を阻害するが、lecithin を同時に作用させると、即ち lecithin 3 mg/ml と Gramicidin J 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の場合、添加 lecithin は Gramicidin J の各細菌に対する葡萄糖酸化阻害作用を完全に除去するが、lecithin の低濃度 (lecithin 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, Gramicidin J 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の場合は第 2 図に示すよ

うに、黄色葡萄状球菌に対しては、感受性菌、抵抗菌とも、何等影響を示さないのに反し、大腸菌に対しては著明に阻害作用が除去される。この事実は大腸菌と抵抗菌との間に、Gramicidin J に対する抵抗性に差異のあることが判る。

尚、或種の抗菌性ペプチッドが detergent と同様、細胞の表面を変化せしめ、そのために細胞の死活に重要な意味をもつ可溶性物質の漏出を促進することが報告されているが、Gramicidin J もまた同様の作用を有し、第 3 図に示すように Gramicidin J 作用後 30 分では感受性菌は Gramicidin J の低濃度に於ても、260 μm の極大吸収を有する物質の漏出が認められるのに対し、大腸菌では Gramicidin J の高濃度 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に於ても該物質の漏出は遙かに少量である、抵抗菌に於ては、その耐性の範囲を越えた高濃度になると、その漏出は大となる。尚 Gramicidin J の 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で長時間 (2 時間) 作用せしめると、その漏出は各菌の間には差異は認められない。

以上の僅かな実験結果から Gramicidin J の作用機序を論ずるのは早計であるが、Gramicidin J は分子中の Ornithine の δ の位置のアミノ基が存在するため、Ca-

第3図 Effect of the addition of Gramicidin J on the release of 260 m μ absorbing material by bacterial suspensions



ationic detergent としての作用を有し、細胞壁又は細胞膜に作用して、生活に必要な有機物質の漏出を惹起することが、細菌を死滅させる大きな原因の一つと考えてよいと思う。