

抗生物質ホルミシスの理解と応用

保坂 毅

北里大学特別栄誉教授 大村智先生のノーベル生理学・医学賞のご受賞を心からお祝い申し上げます。

1928年のFlemingによるペニシリンの発見に始まり、抗菌性を有する物質が微生物の代謝産物から次々と見つけ出されるようになった。1940年代はじめには、Waksmanが土中に棲む放線菌の二次代謝産物から結核菌に効くストレプトマイシンを発見し、抗生物質という言葉が誕生した。それから現在に至るまで、わずか70年余りの間に、さまざまな微生物の二次代謝産物から数多くの抗生物質が探し出され、我々人類はそれらから限りない恩恵を受けてきた。現在では、抗アレルギーや抗がん作用などの生理活性を示す物質も抗生物質と呼ぶことがあるが、抗生物質の元来の定義は、微生物が生産し、他の微生物の生育を抑制する効果をもち、動物に対して毒性が低い化学物質とされている。いずれにしても、「抗生物質」という言葉から湧いてくるイメージは「阻害」や「抑制」である。ここでいつも疑問に思うことは、微生物は何のために抗生物質を生産するのか、抗生物質の真の働きは何か、といった点である。本稿では、筆者らによる最近の研究成果を紹介しながら、抗生物質に対する疑問点に触れてみたい。

細菌からの抗生物質探索研究の現在

複数の抗生物質に耐性を示す多剤耐性菌が次々と発生する状況下で、新しい抗生物質の発見が求められている。しかし、ここ数十年、細菌の二次代謝産物から得られることの多い新奇抗生物質の探索は停滞気味である。この窮地を打破すべく、世界保健機構や英国政府が設立した調査委員会は、2015年に入り抗生物質研究の再活性化に向けた世界規模での取組みに注力しはじめた¹⁾。

細菌からの新奇抗生物質の発見には、(1) 未培養細菌を研究する新たな方法の確立、(2) 細菌に散在する潜在的な二次代謝能（抗生物質生産能力）を活用するための手法の開発、といった課題に創意工夫を重ねて取り組む必要がある。(1)の課題は、実在する細菌のおよそ9割は未だ実験室で培養できていないという事実に基づくもので、これまでのやり方では培養が困難な細菌をいかにして活用するかを目的としている。ノースイースタン大学（米国）のLewisとEpsteinは、地中に突き刺

し細菌の培養を可能とするiChipと命名したシンプルな装置を開発し、実際にこれを使って新たな細菌種の分離と新抗生物質の発見に成功した^{1,2)}。彼らの成果を含めて、(1)の課題に対する検討からは数々の革新的な方法が確立されている¹⁾。一方、(2)の課題は、過去十数年のゲノムプロジェクトの成果から導かれた事実“細菌、とりわけ代表的な抗生物質生産菌である放線菌には、通常の培養では検出に到らない極低発現の二次代謝産物（抗生物質）生合成遺伝子が予想以上に数多く存在する”に基づいている。これを受けて、放線菌に散在する潜在遺伝子を機能させ、新たな抗生物質（有用二次代謝産物）の生産に結び付ける手法の開発が遺伝子工学、代謝工学、代謝生理学などのさまざまな面から世界的に進められるようになった。これまでに、複合培養法や画期的な異種発現システムを取り入れた手法、さらにはリボゾーム工学と呼ばれる斬新な手法など、我が国の研究からも抗生物質の探索に有効な手法が数多く生み出されてきた³⁻⁵⁾。

抗生物質の濃度依存的現象 “抗生物質ホルミシス”

筆者らは、前述した(2)の課題に取り組むなかで、以下に述べる興味深い重要な知見を得た。図1には、放線菌基準株*Streptomyces coelicolor* A3(2)をリンコマイシン（リボソームに作用してタンパク質合成を阻害する抗生物質）存在下で培養した時の様子を示した。40 µg/mLのリンコマイシン存在下では生育の阻害が認められる。一方、一見してわかるように、0.5~20 µg/mLのリンコマイシン存在下では、リンコマイシン非存在下に比べて青色色素抗生物質の生産量が明らかに高い。すなわち、放線菌*S. coelicolor* A3(2)が潜在能力を発揮して二次代謝が活性化している状態になっている。筆者らはこれまでに、リンコマイシンやクロラムフェニコールといったリボソーム攻撃性抗生物質が、高濃度〔生育阻止濃度（MIC）以上〕では生育阻害を起こすが、低濃度（MICより低濃度）では二次代謝（二次代謝産物生合成遺伝子の発現）の活性化をもたらす現象をさまざまな放線菌で確認してきた⁶⁾。抗生物質のそのような濃度依存的現象はホルミシスといえる。ホルミシスとは、ある物質が高濃度で用いられた場合は有害に働くが、低濃度であれば逆に有益な作用をもたらす、生物活性を刺激する現象の

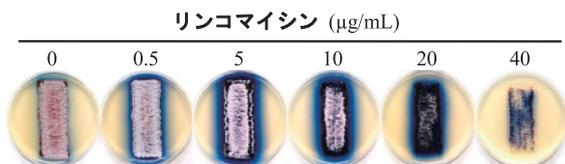


図1. リンコマイシン存在下における*S. coelicolor* A3(2)の生育と青色色素抗生物質生産。MR5寒天培地で7日間培養(30°C)。

ことをいう。

細菌における抗生物質のホルミシス効果に関する研究は、サルモネラ細菌の病原性を指標にした検討など、ブリティッシュコロンビア大学(カナダ)のDaviesにより先駆的に進められてきた。彼らの研究においても、MICより低い濃度の抗生物質存在下で確かに細菌の遺伝子発現が大きく変わることが実証されている^{7,8)}。放線菌においては、抗生物質のホルミシス効果として表立って表現されている事例はそれほど多くないが、筆者らの成果に加えて、低濃度の抗生物質存在下で二次代謝産物の生産量やその類縁体の生産パターンが変化する現象がいくつか報告されている^{6,9,10)}。これらの成果は、抗生物質のポジティブな効果を活用すれば、放線菌の潜在的な二次代謝能を引き出せることを強く示唆している。

抗生物質とは本当は何か？

筆者らはこれまでの解析から、リンコマイシン存在下で放線菌*S. coelicolor* A3(2)が色素抗生物質を高生産する条件で、培養の最終菌体量がリンコマイシン非存在下に比べて多くなることも明らかにした(図2)⁹⁾。抗生物質であるリンコマイシンが放線菌の生育に対してポジティブに働きかけるイメージはなかったため、この結果は完全に予想外であった。さらに詳しく検証してみると、色素抗生物質を高生産し、菌体量が増えている条件では、細胞内のATP量が高いことも明らかになった。F₀F₁ATP合成酵素の発現や本酵素のネイティブ状態が変化したことで、細胞内のATP量が高くなることも判ってきた。この仕組みを理解するのは難しいが、細胞内ATP量が高いことに起因して菌体量が増えた可能性は十分考えられる。その他にも、リンコマイシン存在下で、ABCトランスポーターやリンコマイシンの標的である23S rRNAをメチル化する酵素の発現が劇的に高くなることを見いだした。細胞内にリンコマイシンが蓄積しないように、かつ標的部位にリンコマイシンを作用させないように、細胞が二重対策でリンコマイシンから逃れ生き延びようとしている様子が理解できる。さらなる詳細に関し

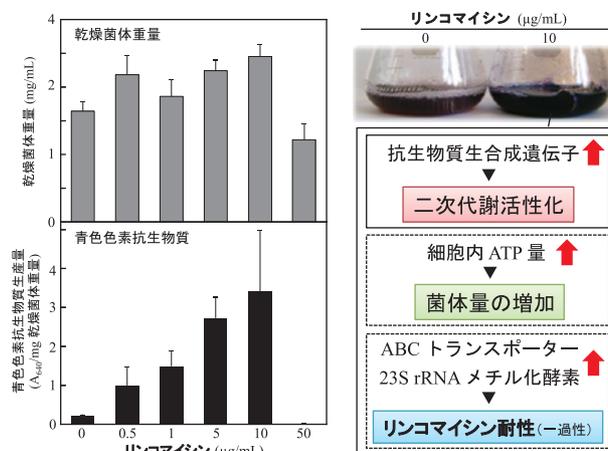


図2. リンコマイシンが*S. coelicolor* A3(2)の生育と青色色素抗生物質生産に及ぼす影響。MR5液体培地で10日間振とう培養(30°C)。

ては現在も解析中であるが、以上のように、リンコマイシンという一つの抗生物質の作用で、遺伝子発現から生育、二次代謝に及ぶまで、放線菌の性質が大きく変化することが確かな事実として明らかになった。ここまで述べてきた内容を振り返ってみても、抗生物質とは何か、放線菌は何のために抗生物質をつくるのか、現段階では結局のところ冒頭で述べた疑問に辿り着いてしまう。

放線菌の二次代謝は、生合成遺伝子、基質、シグナル分子や制御因子、さらにはエネルギー源となる物質などが複雑に作用し合い、巧妙なバランスで成り立っている。もしかしたら自然界では、そのバランスを整えるのに抗生物質が一役も二役も買っているのかもしれない。放線菌からの新奇抗生物質の探索研究を今後さらに発展させるためには、生産者である放線菌の性質のみならず、抗生物質の本質も深く理解することが、実はとても重要なものかもしれない。

文 献

- 1) Lok, C.: *Nature* ダイジェスト, **12**(9), 16 (2015).
- 2) Ling, L. L. et al.: *Nature*, **517**, 455 (2015).
- 3) Hosaka, T. et al.: *Nat. Biotechnol.*, **27**, 462 (2009).
- 4) Onaka, H. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 400 (2011).
- 5) Ikeda, H. et al.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **41**, 233 (2014).
- 6) Imai, Y. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, 3869 (2015).
- 7) Davies, J. et al.: *Curr. Opin. Microbiol.*, **9**, 445 (2006).
- 8) Yim, G. et al.: *Int. J. Med. Microbiol.*, **296**, 163 (2006).
- 9) Amano, S. et al.: *J. Antibiot.*, **63**, 486 (2010).
- 10) Romero, D. et al.: *Chem. Rev.*, **111**, 5492 (2011).