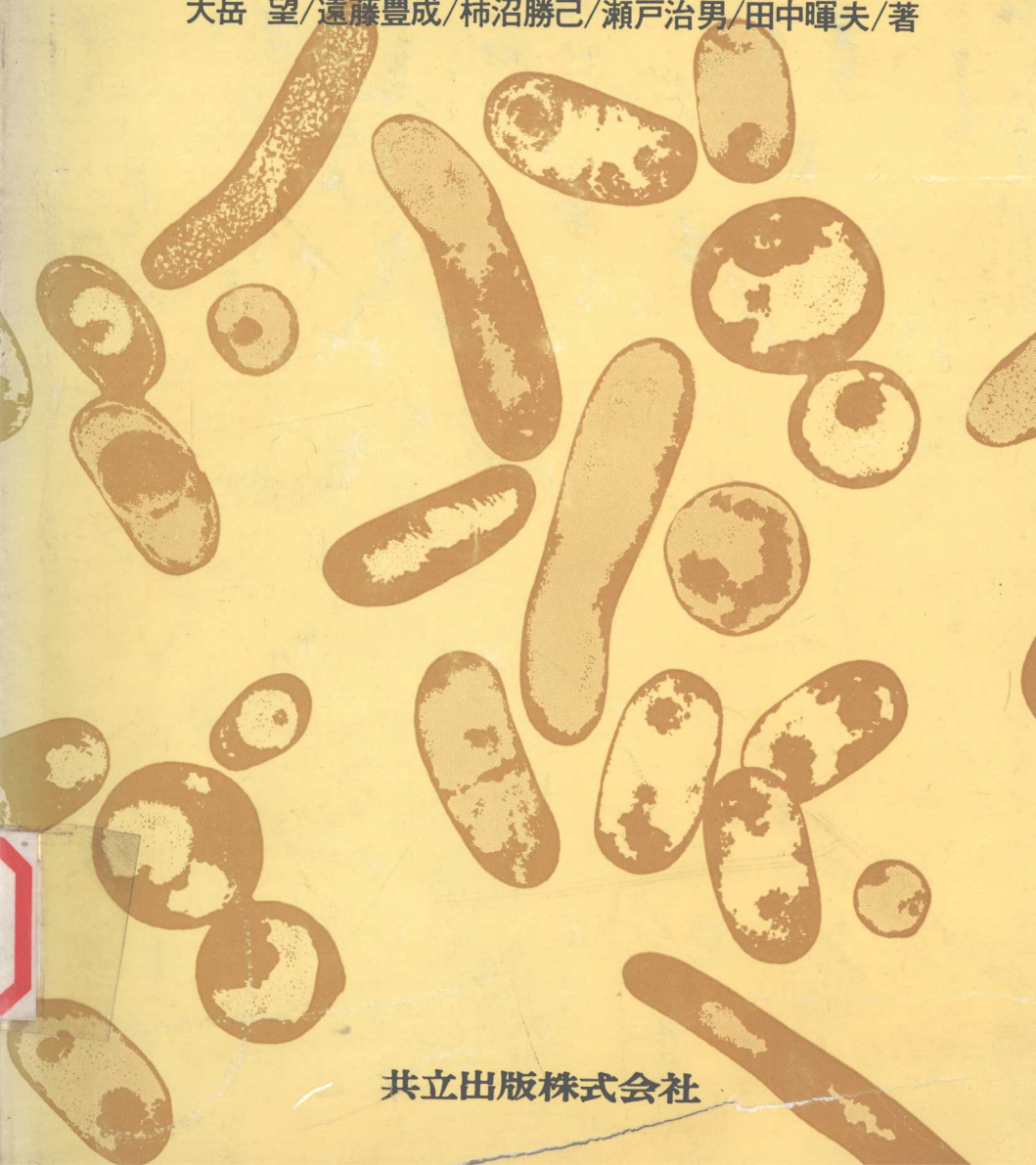


微生物学基礎講座 6 編集委員長 有馬 啓

生理活性微生物化学

大岳 望 編

大岳 望/遠藤豊成/柿沼勝己/瀬戸治男/田中暉夫/著



共立出版株式会社

微生物学基礎講座 ⑥ 編集委員長 有馬 啓

生理活性微生物化学

大岳 望 編

大岳 望/遠藤豊成/柿沼勝己/瀬戸治男/田中暉夫/著



Y072132



共立出版株式会社

編・著者紹介（執筆順）

おおたけ のぼる
大岳 望

1952年 東京大学農学部卒業
現在 東京大学応用微生物研究所教授・農
学博士

えんどうとよしげ
遠藤豊成

1964年 東京大学薬学系大学院修士課程修了
現在 共立薬科大学薬学部教授・薬学博士

かきぬまかつみ
柿沼勝己

1972年 東京大学農学系大学院博士課程修了
現在 東京工業大学理学部付属天然物化学
研究施設助手・農学博士

せ とはるを
瀬戸治男

1968年 東京大学農学系大学院博士課程修了
現在 東京大学応用微生物研究所助教授・
農学博士

たなかてるお
田中暉夫

1971年 東京大学農学系大学院博士課程修了
現在 三菱化成生命科学研究所セクション
チーフ・農学博士

微生物学基礎講座 6巻

生理活性微生物化学

定価 3500 円

1985年10月1日

初版1刷発行

編者 おおたけ のぼる
大岳 望

© 1985

発行 共立出版株式会社 / 南條正男
東京都文京区小日向4丁目6番19号
電話 東京 947 局 2511 番（代表）
郵便番号 112 振替東京 1-57035 番

印刷 科学図書印刷

製本 関山製本

検印廃止

NDC 465

ISBN 4-320-05305-2



社団法人
自然科学書協会
会員

Printed in Japan

序 文

最近バイオテクノロジーの分野が急速に発展し、とくに微生物の代謝機能を利用した有用物の生産に強い期待が寄せられている。

また、微生物の物質生産が多くのバラエティーに富み、とくにわれわれの日常生活に深く関り合っている抗生物質を始め、多くの生理活性物質が二次代謝生産物として得られている。これらの物質代謝もまたバイオテクノロジーの研究対象として極めて重要なものであり、今後の発展は期して待つべきものがある。

本書は、このような背景で微生物の生産する生理活性物質研究の現状をまとめたものである。その中で、抗生物質はやはり重要な地位を占めているが、すでにこの分野には多くの成書があるので、本書では総論的な取り上げ方ではなく、新しい動向に重点をおいた。とくに抗生物質の生合成については、どのような代謝系が関与しているかについて詳しく述べている。このような代謝機構とその制御関係の解明が、遺伝子工学的手法と結びついて新しい応用微生物学の展開が始まろうとしている。

また、微生物の生産する酵素阻害剤の研究から BRM (Biological Response Modifier) への発展があり、生体防御機構の解明につながっている。これは生命科学の分野で重要なばかりではなく、臨床応用でも重視されている。

われわれの日常生活に大きい影響をもつマイコトキシンの研究は、今まで比較的小ざりにされた嫌いがある。しかし、目に見えぬ病毒による生活環境の汚染がいかにか恐ろしいものであるか、いかに多くの種類の毒素が身近に存在するかを知らせるだけでも大きい意義がある。

本書は、微生物学全般に関する叢書の一巻として、微生物の生産する各種生理活性物質を生物有機化学的な観点からまとめたものである。

微生物学の研究に携わる方々や学生の参考書および他分野の研究者の解説書として役立てば幸せこの上ない限りである。

昭和60年7月12日

大 岳 望

目 次

1 章 序 論	(大岳 望).....	1
1.1 微生物の多様性と代謝能力		1
1.2 人間と微生物のかかわり合い		2
1.3 微生物代謝生産物研究の歴史と展望		3
2 章 抗生物質		5
2.1 抗生物質の化学	(遠藤豊成・大岳 望).....	5
抗真菌抗生物質 8	抗カビ, 抗酵母抗生物質 61	抗癌抗生物質 71
2.2 抗生物質の生合成	(柿沼勝己・瀬戸治男).....	85
生合成研究法 86	Aminocyclitol 抗生物質の生合成 91	Mutasynthesis 102
環状ペプチド抗生物質の生合成 103	<i>m</i> -C ₇ N 抗生物質 106	Polyketide 系抗生物質 108
¹³ C-NMR による生合成研究法 117	ヌクレオシド系抗生物質 121	β-ラクタム系抗生物質 125
抗生物質生産とプラスミド 130		
2.3 抗生物質の作用機作	(田中暉夫).....	131
細菌細胞壁合成を阻害する抗生物質 131	細胞質膜に作用する抗生物質 138	細胞外膜に作用する抗生物質 141
核酸の生合成を阻害する抗生物質 142	蛋白質の生合成を阻害する抗生物質 155	
参 考 書		167
引 用 文 献		170
3 章 マイコトキシン	(柿沼勝己).....	186
3.1 Mycosis と Mycotoxicosis		186
3.2 歴史的背景		187

3.3	マイコトキシン研究の社会的意義	188
3.4	マイコトキシン研究の現状	189
	ポリケチド化合物 191 アミノ酸由来の micotoxins 199	
	テルペノイド系マイコトキシン 203	
	引用文献	205
4	章 微生物の生産する酵素阻害剤 (大岳 望)	208
4.1	プロテアーゼの阻害剤	209
	セリンおよびチオール・プロテアーゼの阻害剤 209 そのほか のプロテアーゼ阻害剤 211	
4.2	グルコシダーゼの阻害剤	213
	α -アミラーゼの阻害剤 213 β -ガラクトシダーゼの阻害剤 214	
	シアリダーゼの阻害剤 214	
4.3	カテコールアミン代謝系の阻害剤	215
4.4	その他の酵素阻害剤	217
4.5	まとめ	219
	引用文献	219
5	章 その他の生理活性物質 (大岳 望)	222
5.1	微生物の生活環制御物質	222
	水カビの生殖制御物質 223 毛カビの生殖制御物質 223	
	酵母類の接合フェロモン 224 <i>Tremella mesenterica</i> 225	
	発茸誘起物質 225 胞子形成促進物質 226	
5.2	その他の生理活性物質	227
	Gibberellins 227 Abscisic acid 228 Vitamin B ₂ 228	
	Vitamin B ₁₂ 228 Vitamin C 229 免疫賦活物質 229	
	引用文献	230
	索引	232

1

章

序 論

1.1 微生物の多様性と代謝能力

微生物は、小さいながらも1つの個体である。しかしながら、その個体を維持すること<生命の営み>や、別の個体を生み出す<増殖>のしくみは、それぞれ異なっている。例えば、酸素がなければならぬものもあれば、あってはいけないものもある。孢子だけで増えるものもあれば、はっきりオス、メスに性分化して有性生殖を営むものもある。共通しているのは、生活環が短いということである。

たとえば、大腸菌 *E. coli* はごくありふれたバクテリアであるが、その2分裂の時間は約20分といわれる。そして、この短い時間に、必要な物質代謝から器官の形成までが行なわれているのである。

それでは一体、今日知られている微生物は何種類位あるだろうか。カビ、酵母およびバクテリア(放線菌を含む)など、全部で約50,000種位とされている。しかし、宇宙にはまだ知られていない微生物がどの位あるか測り知れない。実際には、その生態系を十分に理解できないために、分離できないでいる微生物が多いのではないかと推定されている。

このような微生物の多様性は、その生態学的、形態学的ならびに生理学的特性によって代表されている。当然のこととして、その代謝系もそれぞれ異なり、栄養要求も異なり、代謝生産物も異なる。そのよい例が、抗生物質に見られるように、約4千数百種といわれる化合物は、人類が今まで知ったあらゆる種類の物質を網羅している。

多様性のほかに、その優れた代謝能力にふれて見よう。前に述べたように、

短い生活環の間に、必要な個体形成から、もろもろの代謝生産物まで創り出す能力は、微生物のみがもつ特性である。

たとえば、penicillin G を人間が作るとしたら、いかに効率よくできても微生物の数百倍の時間がかかるとされる。その卓越した代謝能力は、到底他の生物の及ぶところではない。

1.2 人間と微生物のかかわり合い

人間と微生物のかかわり合いについて、少し考えてみる必要がある。これには、善悪両面があるがまず善い面では、いかに微生物の能力を利用したかを考える必要がある。古代エジプト人が、小麦粉を発酵させてパンをやいたのは、紀元前 4000 年頃からだとされている。ビールやワインを醸造したり、ヨーグルトを造ったのも初期文明の頃からと記録されている。このように、意識するとしなにかかわらず、人類は微生物を利用し自分達の生活の便に供したのである。しかしながら、微生物の存在をはっきりと認識したのは、実際は大部おくれて 19 世紀に入ってからである。

別の面から微生物とのかかわり合いを考えてみよう。それは、微生物との闘いである。実際には間断なく続き、その歴史は人間の発生の時点にさかのぼることができる。われわれの腸内には、多くの種類の微生物がフロラを形成して、良かれ悪しかれ重要な作用をしている。実際に、糞便 1g 中に 10^{10} ~ 10^{11} の細菌がいるといわれる。この中には、ビタミンを供給してくれたり、消化や排泄を助けてくれる善玉もいるが、一方食中毒をひき起こしたりする悪玉もいる。これがもっとも身近なかかわり合いの例である。

また一方、人類の存在を脅かす多くの病原微生物の存在を忘れることができない。チフス、コレラや結核などの伝染性細菌感染症は、抗生物質という強力な化学療法剤のなかった時代は、誠に深刻な脅威であった。ペストや流行性感冒、肺炎などの猛威で、全滅に類した町や村は史上に多くの記録が残されている。実際には、今日でも多くの未解決の微生物病害が残されており、各種の感染症を含め厳しい闘いが続いているのである。

このほかに、マイコトキシンについて触れる必要がある。微生物の生産するマイコトキシンは、目に見えない病害として実に長い年月にわたって大きな被

害を与えてきたのである。これは、目立たない病害であるだけに被害は深刻であり、病因の解明がなされたのは極く最近になってからである。

例として、黄変米の毒素 islanditoxin は肝硬変の病原物質であり、*Aspergillus flavus* の生産する aflatoxin (s) は強い発癌物質であるが、長い間気づかぬままに我々は食品とともに摂取していたので、その被害のほどは測りようもない。また、麦角はムギの熟する頃病原菌の寄生によって生産される毒素であるが、風に吹かれて家畜に吸収され流産をひき起こすことが証明されている。

最近は、とくに発癌性をもつマイコトキシンについて組織的な研究が行なわれており、被害も著しく減少している。

このように、人類と微生物のかかわり合いが善悪両面にわたり、文明の進歩のために大きな役割を果たしたともいえる。

1.3 微生物代謝生産物研究の歴史と展望

今まで述べたように、微生物の多様性と卓越した代謝能力を利用した微生物工業の発展は、まことにめざましいものがある。われわれの日常生活を支えている抗生物質をはじめ、多くの有用物とその賜物である。

しかし、近代微生物学の歴史をふり返るとその日まだ浅く、Pasteur (1866年) による基礎の確立から数えても百数十年にすぎない。アルコール発酵という化学変化が微生物の働きによるということを明らかにする数千年前から人間は微生物の恩恵を受けていたのである。

近代微生物学の基礎が確立されてから、その発展はめざましいものがある。病気の原因を究明する病原微生物学の分野は別として、応用微生物学の研究が急速にすすみ、今日われわれの社会生活になくってはならない抗生物質をはじめとする医薬品、各種アミノ酸、核酸や味噌、醤油、チーズおよびアルコール飲料などが微生物の働きによって生産されている。

抗生物質の研究は、Fleming (1929) の penicillin 発見以来 50 数年を経ているが、研究はなお盛んである。今日までに 4 千数百の物質が発見されているが、約 100 種類が実用に供されており、細菌性感染症をはじめ、制癌、農業生産の病害防除殺虫、除草剤や飼料添加剤などに使われている。

細菌性疾患では、 β -ラクタム抗生物質の開発が盛んであり、広いスペクトラムをもち、多くの耐性菌に対して有効で副作用の少ない第4世代の化合物が登場しようとしている。また、制癌剤もより副作用の少ない薬剤の開発が強く期待されている。そのほか、システミックな作用をもつ抗カビ剤や、生体の自己防禦機能を高める BRM (biological response modifiers) 化合物なども微生物生産物として発見されている。

抗生物質研究の延長として、多くの微生物の生産する酵素阻害剤が見出されている。

これらの酵素阻害剤は、それ自体が種々の生理作用を示すばかりではなく、その作用のメカニズムを追究することにより、従来知られていない代謝系の解明にも役立っている。

このように微生物の多様な代謝能力を利用した各種生理活性物質の研究は今後も益々盛んに行なわれるであろう。また、微生物の優れた代謝能力を、遺伝子組み替えや細胞融合などの新しい手法で増幅し、より新しい化合物を創り出す努力も、徐々に実を結びつつあり、今後大いに成果が期待される。

応用微生物の分野でも、今まで述べた各種生理活性物質の生産はもちろんのこと、他の付加価値の高い物質の生産をも微生物に委ねようとする試みが成功しつつある。微生物の利用は、今やその基盤を拓げて新しい発展の段階にさしかかったのである。

2 章

抗 生 物 質

2.1 抗生物質の化学

歴史的背景 人間を含めた高等生物の生活領域はまた微生物の生息環境であり、相互に影響しあっている。ある種の微生物は動物の常在菌叢を形成し、植物に栄養物質を与え、共生 (symbiosis) 関係を作っている。またある種のもは病原菌 (pathogen) として我々の健康に障害を与えていることも周知のことである。微生物間では多種が共存する場合、その中の一種の生育が抑制されまたは死滅させられる拮抗 (antagonism) または抗生 (antibiosis) 現象が観察されており、古く J. Tyndall は *Penicillium* と細菌間の拮抗現象を認めており (1876)、L. Pasteur も *Bacillus anthracis* が好気性細菌によって生育を抑制されることを記載している (1887)。このような拮抗現象を細菌感染症の治療に利用することが考えられ、緑膿菌 *Pseudomonas pyocyanus* (*Ps. aeruginosa*) がチフス菌とコレラ菌の生育を抑制することから拮抗作用物質として pyocyanase が分離され臨床試験が行なわれたが明確な有効性は認められなかった (1910 年頃)。また、カビの代謝産物として mycophenolic acid が分離されたが (1896)、宿主に毒性を示すことなく病原性細菌にのみ有効性を発揮する性質 (選択毒性 selective toxicity) を有する微生物代謝産物を得ることはできなかった。これは植物成分や化学合成品が原虫やスピロヘータの制御に有効性を示してきたことと比較して細菌性疾患の治療がより困難なものであることを示すものと考えられた。

Penicillin の発見 1928 年英国の Alexander Fleming (St. Mary Medical College, London) は実験室に放置した黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus*

aureus の平板に青カビ *Penicillium notatum* が混入、集落を形成し、その周囲では細菌の生育が阻害されることを観察した。Flemingはこの現象に青カビの生産する物質が介在していると考え、この物質を penicillin (PC) と命名¹⁾した。PCは化学的には不安定ながら化膿球菌やジフテリア菌の生育を阻害し、動物組織には毒性が少なく創傷や伝染病に使用可能なことを報告した。これが華々しい抗生物質時代の幕開けとなる報告であるが、PCが熱や酸、アルカリに不安定なために精製を完了するにはいたらず、その有用性が広く認められるまでなお10年の時間を必要とした。その間、1935年 G. Domagk らに始まるサルファ剤の開発があり、1939年には R. Dubos らが *Bacillus brevis* の生産物質として tyrothricin を結晶状に取り出している。これは翌年 gramicidin と tyrocidin に分離されたペプチド性の抗菌物質で、副作用が強いため局所投与に適用されるに留まったが、明確に細菌の生育を抑制する物質の存在を意識させることになった²⁾。折から1939年第二次世界大戦が勃発し創傷感染症が増加するとさらに有効性の高い治療薬の開発が求められた。Oxford大学の H.W. Florey と E. Chain らは Fleming の報告を追試験し、PCの粗粉末を得て臨床試験を行ない(1941)、その有効性が認められ(PCの再発見)、工業的規模の生産が行なわれるにいたった。

抗生物質の検索 一方、S.A. Waksman らは土壤微生物の放線菌をスクリーニングすることによって抗生物質の検索を行ない、actinomycin (1941)、streptothricin (1942)、streptomycin (1943)、neomycin (1949) 等を発見した。中でも streptomycin は結核に有効性を示し、重要な医薬となった。続いて chloramphenicol (Ehrlich 等, 1947)、aureomycin (Duggar 等, 1948)、terramycin (Finlay 等, 1950)、erythromycin (McGuire 等, 1952)、mitomycin (秦等, 1953)、kanamycin (梅沢等, 1957) 等が次々と開発されて華やかな抗生物質の時代 (antibiotic era) が展開し、当時死亡率の上位を占めていた細菌性肺炎、結核、腸内疾患は治療可能となり、1960年頃には主要な細菌、リケッチア感染症に対する化学療法は完成されたかに見えた。

しかし、その頃から感染症の変貌、耐性菌の増加、菌交代症、重篤な副作用などの諸問題が顕在化し、再び抗生物質の開発競走が始まった。この時に大きな貢献をしたのは半合成誘導体の開発であり、天然の骨格に有機化学的修飾を

施すことにより抗菌活性の増強，作用範囲の拡大，耐性菌や抗生物質不感受性菌の制圧に大きな進展が見られた。

抗生物質とは 抗生物質とは Waksman (1945) によって“微生物によって生産される化学物質で，細菌や他の微生物を殺したり，生育を阻害する能力を有するもの”と定義されたが，現在4,000を越えるといわれる抗生物質の起源は必ずしも微生物の代謝産物に限るものではない。また，数万といわれる化学誘導体も同列に扱われており，作用対象も微生物をこえて悪性腫瘍やウイルスに及んでおり，さらに酵素阻害剤や薬理活性物質，免疫反応関連物質も含めて考えられる傾向にあって広範囲の生体反応に関与する天然物質およびその誘導体の総称とされることも考えられる³⁾。

抗生物質の有用性は医薬としてのすぐれた用途の他に農薬や保存料，家畜飼料添加剤として食料増産の一翼を担っており，また生化学試薬として生体反応の解析に大きく貢献したこともよく知られるところである。また，一群の複雑多様な天然物質として有機化学的標的を与え知識体系の整備や新しい合成研究を刺激したことも衆知のことである。

A. 抗菌抗生物質

a. β -ラクタム抗生物質 分子中に β -ラクタム lactam 構造を有する抗生物質には penicillin (PC) や cephalosporin (CEP) などがある⁴⁻⁷⁾。これらは細菌の細胞壁合成を阻害することによって作用を示し，細胞壁は高等動物には存在しない細胞構造であるために高い選択毒性が期待でき，安全性の高い医薬品として多用されている。現在日本で認可されている抗生物質 108 種 (1982 年)⁸⁾ の内 β -ラクタム抗生物質は 40 種に及び順次追加されている。生産量も図 2.1 に見られるように全体の 80% を越え⁹⁾，近年の抗生物質開発の焦点となっているところである。

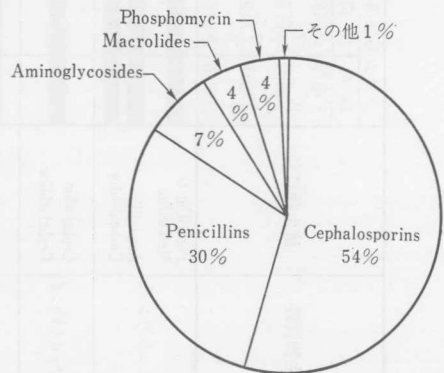
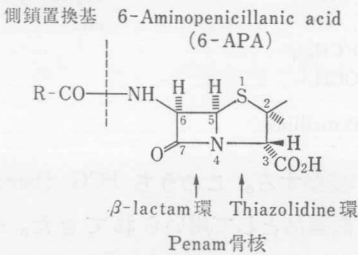


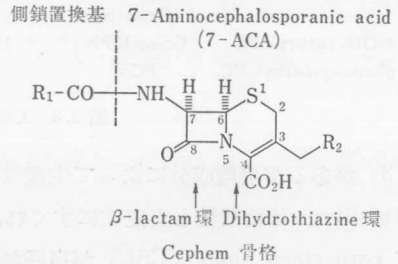
図 2.1 抗生物質生産量比 (日本, 1981)

化学構造上の特徴はいずれも4員の β -ラクタム環を含むことであり、PC型の二環性基本骨格を penam, CEP 型を cephem と呼んでいる。Penam 骨格中に二重結合を有するものは penem 骨格と呼ばれる。分子中のS原子は抗菌活性を示すには必須ではなく、CやOに置換された物質も知られており、それぞれ carbapenem, oxacephem と呼ばれる。これらのうち PC と CEP は *Penicillium*, *Cephalosporium* 属のカビ(真核生物)の代謝産物であるが、cephamycins (CPM) 類(7-methoxycephalosporins), carbapenem類は *Streptomyces* に属する放線菌(原核生物)の代謝産物である。また、単環性の β -ラクタム抗生物質は細菌の代謝産物で monobactam と総称される。

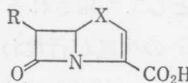
Penicillin 類(PCs)



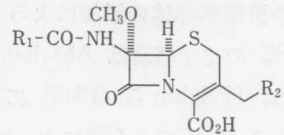
Cephalosporin 類(CEPs)



Penem 骨格 X=S
 Carbapenem 骨格 X=C
 Oxapenem 骨格 X=O



Cephamycin 類



Monobactam

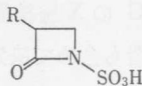
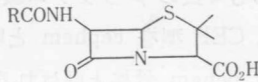


図 2.2 β -ラクタム抗生物質

1. Penicillins : Penicillin (PC) は青カビ *Penicillium notatum* あるいは *P. chrysogenum* の生産物として単離されたが、工業的には後者由来の Q-176 株を改良した株が用いられ、Fleming 当時(1~2 単位/ml, 1 単位=0.6 γ)に比して1万倍以上にいたる生産性が得られているといわれる。

当初天然 penicillin として単離されたのは PC-G, F, K, dihydro-F 等(図



名 称	略 字	R	力 価 (unit/mg Na 塩)	生 産 菌
benzyl-PC	PCG	ϕ CH ₂ -	1667	<i>P. notatum</i> <i>P. chrysogenum</i>
<i>p</i> -hydroxybenzyl-PC	X	HO- ϕ -CH ₂ -	970	
Δ^2 -pentenyl-PC	F	CH ₃ CH ₂ CH=CH-CH ₂ -	1625	
<i>n</i> -heptyl-PC	K	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH ₂ -	2300	
<i>n</i> -amyl-PC	Dihydro-F	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH ₂ -	1610	
Δ^3 -pentenyl-PC	Flavacidin	CH ₃ CH=CH(CH ₂) ₂ -	—	
<i>L</i> - α -aminoadipyl-PC	Iso-PCN	HO ₂ C $\begin{matrix} \text{L} \\ \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$ (CH ₂) ₃ -	—	<i>P. chrysogenum</i>
<i>D</i> - α -aminoadipyl-PC	PCN	D	—	<i>Cephalosporium</i> etc.
4-OH-buteryl-PC	Comp KPN	HO(CH ₂) ₄ -	—	
phenoxymethyl-PC	PCV	ϕ OCH ₂ -	—	

図 2.3 天然 Penicillins

2.3) があるが培地成分によって生産量が変動する。このうち PCG (benzyl penicillin) は比活性と安定性にすぐれ、医薬品として用いられてきた。やがて corn steep liquor (CSL) が良好な培地成分であることが知られ、その含有成分が PC 側鎖置換基の前駆体として利用されることが明らかになり、フェニル酢酸誘導体の添加による PCG の生産が行なわれるにいたった。

PC の化学構造は Abraham, Chain (1942) により β -ラクタム構造が提出され、Hodgkin ら (1945) による PCG の X 線結晶解析、Sheehan ら (1957) による PCV の全合成によって立体構造も含めて決定された(図 2.4)。

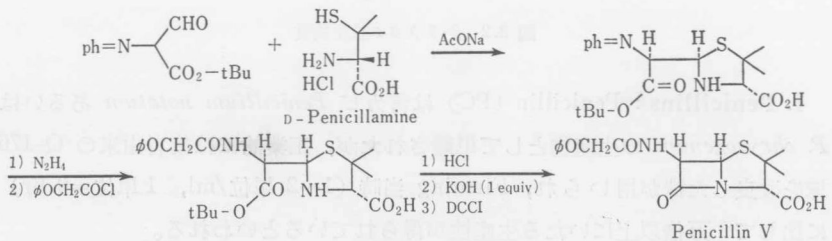


図 2.4 Penicillin V の全合成

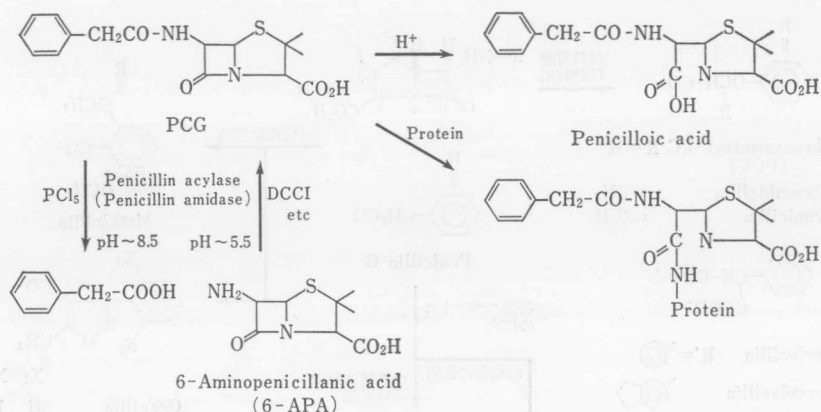


図 2.5 Penicillin の反応

PCG はグラム陽性菌とグラム陰性球菌，スピロヘータに抗菌力を示し，それらの感染症に用いられる。主として注射により投与され，速かに排泄されるので血中濃度が持続する procaine, benzathine, pyrimidine 誘導体等の難溶性塩類が調製されている。PCG は副作用の少ない薬剤であるがアレルギー性過敏反応が知られている。PCG 自体は低分子で抗原性はないが製剤中の不純物等が β -ラクタム環と直接反応して感作抗原となり過敏反応を起こすものと考えられている。現在，製品純度の向上とともに問診，皮内反応によって回避され発生件数の減少を見ている¹⁰⁾。

Penicillin の変換 PC の生物活性は天然 PC のそれぞれが異なる性質を示すように側鎖置換基の性質を反映している。そこで種々のアシル誘導体を調製し，PC の性質の改善が検討された。即ち，1) 耐酸性に優れ経口投与が可能なこと，2) 耐性菌のペニシラーゼにより不活性化されないこと，3) グラム陰性桿菌（大腸菌や緑膿菌）にも抗菌力を示すこと，4) 血中濃度上昇性のよいことを目標とした誘導体が多数試験され，その目的を達した製品が次々と開発されている。側鎖置換基の変換方法としては，1) 前駆体添加による生合成変換，2) 6-APA の化学的および酵素的アシル化法がある。

生合成的変換法は *Penicillium* の発酵過程に有機酸を添加すると分子中に対応するアシル基をとり込んだ化合物（生合成 penicillin）を生成することによ