

Title	コリスチンの作用機作に関する研究
Author(s)	中島, 久二瑛
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29405">http://hdl.handle.net/11094/29405</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 5 】

氏名・(本籍)	中 島 久 二 瑛 なか しま くに ひろ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 1 2 3 4 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 5 月 1 0 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文名	コリスチンの作用機作に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 青 沼 繁 (副査) 教 授 川 崎 近 太 郎 教 授 上 原 喜 八 郎 教 授 岩 田 平 太 郎

論 文 内 容 の 要 旨

Colistin (以下「col」と略す)は1950年 Koyama et al. により土壤菌 *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* の培養液から分離された抗生物質である。「col」は塩基性、環状で peptide で Polymyxin E に該当する。

「col」は Gram- 陰性菌に対して強力な抗菌作用を示すので、現在それらの感染疾患の治療に広く用いられている。第七改正日本薬局方には「コリスチン」として収載されている。その作用は緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を用いての研究により、主として菌体表面の細胞質膜に損傷を与え、菌体の透過性を変えるので、一種の陽イオン型表面活性剤の作用に類似性があるといわれているが、それ以後の研究報告がないので、次のような目的で「col」近縁抗生物質の作用機作の解明に着手した。

- (1) 「col」のもつ Chemotherapeutic agent としての興味から、「col」近縁抗生物質の化学構造と抗菌力の関係を追求し、抗菌力の発現に必要な「col」分子の活性化学構造を究明する。
- (2) 「col」の作用機作を従来の細胞レベルでの研究のみならず、細菌を用い生化学的に解明することにより、「col」近縁抗生物質の複雑な作用を明確に把握する。

(I) Structure-activity relationships of colistin group antibiotics

「col」近縁抗生物質およびその分解産物の大腸菌 B 株に対する抗菌力を比較することにより、化学構造からみた抗菌力の発現に必要な「col」分子の活性化学構造を検討し、次のようなことをみとめた。

- (1) 「col」近縁抗生物質の大腸菌に対する抗菌力は分子中から、側鎖の C<sub>9</sub>-Fatty acid を除くといちぢるしく減少する。
- (2) 「col」分子の環状 peptide 部分は抗菌力を保有しているが、その強さは Intact colistin に比較し、約 1/10~1/20 に低下している。

(3) 「col」近縁抗生物質は大腸菌に対して著しい抗菌力を示すが、その強さには大差がないことから、その環状 peptide の構成アミノ酸の配列順序およびその種類の変化は抗菌力の発現の強さに、ほとんど影響を与えない。

(4) 「col」分子の側鎖の C<sub>9</sub>-Fatty acid には抗菌力はない。これらのことから、「col」近縁抗生物質の抗菌力の発現に必要な活性化学構造は少なくとも分子中の環状 peptide 部分である。

## (II) Mechanism of action of colistin group antibiotics

「col」近縁抗生物質の抗菌作用に関連した顕著な現象として、それらを縁膿菌に 37°C で作用させると、菌体外へ紫外部 260 m $\mu$  に極大吸収を示す物質が遊離することがみとめられているが、著者は大腸菌を用いて、「col」によるこの現象を詳細に検討した。

### (A) On the release of materials absorption maximum at 260 m $\mu$ from washed cells of *Escherichia coli*

(1) 「col」を大腸菌に作用させると、菌体外へ紫外部 260 m $\mu$  に極大吸収を示す物質が遊離する。この現象は 37°C ではおこるが、2°C では観察されない。

(2) 抗菌力の低下した Deacylcolistin や抗菌力を低下させる Mg<sup>++</sup> および Ca<sup>++</sup> の存在下ではこの物質の遊離はない。

(3) 「col」の作用により菌体外へ遊離する紫外部 260 m $\mu$  に極大吸収を示す物質の大部分は冷酸可溶性の低分子 Ribocompounds で、菌体内 RNA の分解にもとづく。

### (B) Mode of release of the UV-absorbing materials

「col」を 37°C で大腸菌に作用せしめると、菌体外へ低分子 Ribocompounds が遊離し、菌体内 RNA が分解することから、大腸菌よりリボソーム (Ribosomes) を抽出精製し、in vitro でその遊離機構を検討し、次のような現象を見出した。

(1) 「col」近縁抗生物質は大腸菌リボソームの 30S および 50S 粒子と結合し、水不溶性の複合体を形成する。

(2) 「col」近縁抗生物質は 37°C で大腸菌リボソームの崩壊をおこし、リボソーム RNA を分解する。この現象は 2°C ではおこらない。

(3) 「col」によるリボソーム RNA の分解はリボソームに存在する “latent”-ribonuclease (RNase I) の活性化に基づく。

(4) これらの現象は高濃度 (10<sup>-2</sup>M) の Mg<sup>++</sup> および Ca<sup>++</sup> 存在下で阻害される。

## (III) Intracellular distribution of radioactive colistin in *Escherichia coli*

抗生物質の作用機作を検討する際、その抗生物質の作用部位を確認することは in vitro と in vivo での現象を結びつける上に必要なことである。

著者は精製した放射性トリチウム標識コリスチン (<sup>3</sup>H-「col」と略す) を用い、37°C で大腸菌 B 株に作用させ、菌体を遠心分画により細胞成分を分画し、その中の <sup>3</sup>H-「col」の Radioactivity を測定することにより、その菌体内分布を検討した。

その結果、<sup>3</sup>H-「col」は 10,000Xg, 10min. さらに 20,000Xg, 10min. の遠心操作で得られる細胞質膜をふくむ細胞壁分画に約 37%, さらにその上清分画を 105,000Xg, 120min. の超遠心操作により

沈澱するリボソーム画分に約60%が分布していた。

このようなことから、「col」は細菌々体に取り込まれたのち、タンパク合成に重要な役割をもつリボソームに結合する。さらにそこに存在する RNase I を活性化し、菌体内 RNA を分解する。その結果細菌はタンパク合成能を障害され、分裂増殖能を失うものと考えられる。

もとより「col」の作用発現には、これが菌体内 DNA および RNA、または菌体表層に存在する Lipid などと結合することも関係していると考えられるが、リボソームに存在する RNase I の活性化が本抗生物質の重要な作用であり、作用発現の一機序と考える。

### 論文審査の要旨

本論文は塩基性、環状ペプチド抗生物質 colistin の抗菌作用の機序を大腸菌をもちいて解明したもので、活性はその環状部分にあるなど幾多の新知見を含有しており、学位論文として価値があると考えられる。