抗生物質の進歩と抗ウイルス物質の研究

秦 藤 樹

北里研究所

(日本細菌学会名誉会員)

[受付: 10月28日, 1982年]

私は戦後間もなくペニシリンをはじめとする抗生物質の研究を始めて今日に至っているが、この研究を通しての感想と将来への希望などを述べるように編集部から依頼があつたので拙文を綴る。

I. 抗生物質の発展

抗生物質の研究は1928年 A. Fleming のペニシリン (PC) の発見に始まる新しい分野である。実際には1939年第二次大戦が勃発して、連合軍に戦傷患者が多発し、これを救うのに良い治療薬の出現が要望されていた。これに応じて Oxford 大学の Florey, Chain, Abraham らは Fleming の PC の論文を追試して、すばらしい薬効に驚き早速大量生産の研究を始めたが、ドイツ軍による爆撃が烈しく研究が続けられなかつたので彼らは1941. 7. 米国に渡り政府および民間の協力を得て米英共同の戦時研究が開始され、急速に研究が進み1943. 8. から大量生産に移り多くの戦傷患者を救い “yellow magic” の名のもとに驚くべき効力を発揮した。一方わが国では1943. 12. 南米ブエノスアイレスの今井特派員からの無電によつてはじめて連合軍が PC を戦傷患者に用いて戦局を有利に導いていることを知った。1944年ドイツより潜水艦によつて送られて来た Klinische Wochenschrift (1943. 8. 7. 発行) の PC に関する M. Kiese の総説を入手した陸軍軍医学校では翌年の1月から微生物学の専門家の協力を得て秘かに研究を開始し、終戦までの1年半鋭意研究を進め、碧素の名のもとに小規模ながら治療を開始するまでにいたつて終戦となつた¹⁾。

戦後日本政府の要請に応じて1946. 11. GHQ は米本国から取り寄せた PC 大量生産株 *Penicillium chrysogenum* Q176 を贈り、タンク培養法、抽出法の指導のために J. Foster の来日となり、PC 中央研究所が設けら

れ、戦後の混乱期にも拘らず生産が順調に進み、当時10万単位が3,930円もしたものが2年後には150円に下りさらに結晶製品は米国と同じ水準に達した。

PC の国内生産が軌道に乗つた1948. 9. 政府はストレプトマイシン (SM) の国産化を GHQ に申請した。ところが SM の製造は米メルク社の特許となつていたので結局明治製薬と協和醸酵の二社が特許権使用による製造を、別に科研、日研、島根化学の三社は自力による製造が認められ、わが国の結核治療に必要な量に国内生産が達するまで製品を輸入することでわが国の結核撲滅作戦が開始された。

この頃米国では PC, SM に続いてクロラムフェニコール (1947), オーレオマイシン (1948), テラマイシン (1950) などの広域抗生物質が開発され、感染症の様相が一変して、以来今日まで抗生物質の黄金時代が続いている。

ところで本邦での抗生物質の研究状況を見ると、PC は終戦前に研究が始められ、終戦直前碧素が生まれたのであるが、これに関係した研究者の多くは戦後 PC 中央研究所員となり本邦産の材料を使用して PC の大量生産の研究、指導に当つたので Foster の僅か半年間の指導にも拘らず本邦において大量生産が軌道に乗り、さらに SM の場合には PC の 1/2 の期間で大量生産が可能になつた。さてわれわれは PC, 次いで SM さらにクロマイ (CP) の研究へといつまでも米国の研究に追随することを潔しとせず、国産の優れた抗生物質を発見してやろうと思ひ自らの研究室に拠つて研究を始めた。

その頃は未だ外国雑誌の入手が困難であつたので、私は自ら工夫し、考案し、試行錯誤をくり返して実験した。先ず土の採取に始まり SM の生産菌が放線菌であることから今まで見たことのない放線菌を形態学から独

附表 1. Antibiotics discovered in Japan (1947-1978)

Classification	Year	Antibiotic	Producing Organism	Discoverer
β -lactam	1968	Sulbenicillin	Penicillium (semisynthesis)	Tatsuoka, S. et al.
	1974	Talampicillin	"	Isaka, I. et al.
	1975	Apalcillin	"	Komatsu, T. et al.
	1962	Cefazolin	Cephalosporium (semisynthesis)	Nishida, M. et al.
	1971	Ceftazole	"	" "
	1977	Cefotiam	"	Tsuchiya, K.
	1978	Cefoperazone	"	Saikawa, I.
	1978	Cefmenoxime	"	Ochiai, M. et al.
Amino-glucoside	1948	Fradiomycin (Neom)	Streptomyces	Umezawa, H. et al.
	1957	Kanamycin	"	" "
	1957	Bekanamycin	"	"
	1970	Ribostamycin	"	Niida, T. et al.
	1971	Dibekacin	" (semisynthesis)	Umezawa H. et al.
	1972	Amikacin	"	Kawaguchi, Y. et al.
	1975	Micronomycin	Micromonospora	Nara, T. et al.
	1976	Fortimicin	"	" "
Peptide	1947	Colistin	Bacillus	Koyama, Y. et al.
	1952	Gramicidin S	"	Ohtani, S. et al.
	1959	Mikamycin	Streptomyces	Umezawa, H. et al.
	1967	Enramycin	"	Tatsuoka, S. et al.
	1971	Enviomycin	"	Nagata, A. et al.
Macrolide	1953	Kitasamycin (Leukomycin)	Streptomyces	Hata, T. et al.
	1970	Maridomycin	"	Tatsuoka, S. et al.
	1971	Medicamycin	"	Niida, T. et al.
Antifungal	1951	Variotin	Paecilomyces	Yonehara, H. et al.
	1952	Trichomycin	Streptomyces	Hosoya, S. et al.
	1958	Pentamycin	"	Umezawa, S. et al.
	1960	Azalomycin F	"	Arai, M. et al.
	1961	Siccanin	Helminthogrorum	Ishibashi, K. et al.
	1965	Pyrrolnitrin	Pseudomonas	Arima, K. et al.
Phytopathogenic Antifungal	1958	Blasticidin S	Streptomyces	Takeuchi, S. et al.
	1958	Cellocidin	"	Sumiki, Y. et al.
	1963	Polyoxin (A-G)	"	Suzuki, S. et al.
	1965	Kasugamycin	"	Umezawa, H. et al.
	1970	Validamycin	"	Iwasa, T. et al.
Antitumor	1953	Sarkomycin	Streptomyces	Umezawa, H. et al.
	1954	Carzinophilin	"	Hata, T. et al.
	1955	Mitomycin	"	Hata, T. et al.
	1956	Chromomycin A ₃	"	Tatsuoka, S. et al.
	1964	Neocarzinostatin	"	Ishida, N. et al.
	1965	Bleomycin	"	Umezawa, H. et al.
	1974	Pepleomycin	"	"
	1975	Acrorubicin	"	"

学で学び、分離法、振盪培養法、抽出精製法を考案し、毒性試験、治療実験などを行い、最初に単離した新抗生物質が Luteomycin²⁾ (1949) であり次いで1952年暮に Leucomycin³⁾ (後に Kitasamycin と改名した) を発見した。暫くしてわが国の抗生物質の研究は米国に次いで活発化して今日に至り、得られた新物質は付表1に示した。また、これらは日本学術協議会発行の The Journal of Antibiotics に掲載されている。

わが国の抗生物質の研究は当初は主として大学、研究所などで生物学、医学、農芸化学の研究者によつて行われて来たが、最近では欧米の如く製薬会社が自らの研究所を持ち、薬理、化学方面の研究が盛んになつて来た。また近年新物質を探すことが段々困難になり、しかも仮りに新物質を発見しても、これが実用化するまでには多数の試験が待ち構えている。この難関を突破するまでには長時間と莫大の費用を要するので寧ろ評価済みの、毒性の低い物質から出発して誘導体を作り、より高い効果を狙う研究が多くなつていく。例えば PC, CEP の如く β -lactam 環を有し、耐性を抑え、抗菌活性の拡大した誘導体が最近数多く市販されている。因みに現在 β -lactam 抗生物質は全抗生剤の売上げの70%を占めている。

新物質の研究は臨床実験は別としても、生産菌の分離、培養、抽出精製、薬理試験などなど多くの分野の共同研究があつてはじめて誕生するのであるが、さらに化学構造式が決定されなければ完全とは言えない。

さて抗生物質の研究で最初に問題になるのは、抗生物質生産菌の分離であり、その対象は土壌である。土の中には無尽蔵にも等しい数の微生物が生存している。採取場所によつて放線菌の種類、分布が異なつていくので、なるべく異なつた場所から採取して分離培地で分離し、集落の形態、抗菌活性(抗菌スペクトル)を固型培地、液体培地で調べる。この場合培地の組成によつて、活性物質の生産量に差があることは勿論であり、また性質を異にする種々の物質を同時に産生していることを念頭におく必要がある。この中から希望する或いは目的とする物質を早く探し出すことが重要である。そのためには先ず培養液その儘を用いて目的とする試験を行い、若し有効物質が生産されていることが判明すれば、それを抽出する方法を講ずる。すなわち溶剤に対する溶解性、熱、PHに対する安定性、Rf 値などを調べ、速かに粗粉末を得て動物(マウスを通常用)に対する i. v. における急性毒性(LD₅₀)を求める。この値が制癌剤の場合など特別の場合を除いて抗菌性の治療剤では、静脈注射で LD₅₀

が 100 mg/kg 以上でないとい将来実用化が難しい。

土の中には微生物は無尽蔵に生存しているといわれるが、生産する活性物質は必ずしも無限大とはいえず、すでに長い期間に亘つて多数の物質が分離されている。事実実験中に屢々同一物質が別の微生物たとえば1種の細菌から放線菌生産物と同一物質が単離されているなどのことがあり、また土壌から屢々同一の放線菌が別々に分離され、諸試験が行われることがある。

かかる場合に備えて既知の菌株、既知の物質の成績をよく整理して置き、いつでも比較、鑑別ができるようにして置くことが重要である。若し同一物質と判れば実験の早い段階で中止するようにすべきであることは当然であろう。

新物質を能率よく得るためにはなるべく多くの分離株をテストすることが必要である。それはいかに早く多数の菌株を思いきつて捨てるかということにかかつていく。

II. 抗ウイルス物質の研究

さて抗生物質とは Waksman によれば微生物が産生する物質で、微生物の発育増殖を阻止する物質のことであるが、抗生物質の源は微生物の培養液中に産生される。したがつて希望する物質を得るには、先ず物指しが必要である。幸いに細菌感染症に効く物質を得るにはグラム陰陽両菌による試験菌の抗菌活性を測定すれば、抗菌活性が即感染症の治療につながるもので、あとは毒性の低い物質を探せばよいことになる。

抗癌物質の場合には抗生物質または代謝拮抗物質を種々の動物移植癌に対して用いて腫瘍の縮小消失を狙っている。この場合に、動物癌は必ずしも人の癌と感受性が一致していないが一応動物癌が物指しとして使用されている。然し選択毒性の面で人の癌は人体に対して異物とはいえないので毒性の面で選択毒性に欠けている。

細菌とウイルスの境界に位置する chlamydia は広域抗生物質で治療できるが、ワクシニア以下の小型ウイルスに対しては有効な治療剤は未だ得られていない。したがつて抗ウイルス剤を探すための物指が定まつていない。

1) 細菌とウイルスの相異点

細菌感染症とウイルス感染症とはその機構が本質的に異なっている。前者すなわち細菌は一つの生物として宿主体内で独立して生活を営んでいる。大部分の細菌は細胞内に入らず細胞膜外で増殖して、固有の毒素を産生するが、結核菌、癩菌、リステリア菌、一部の腸内細菌な

どでは細胞内に侵入して増殖する像が見られる。この毒素によつて宿主は障害を受けて症状が現われる。そこで起炎菌に主として作用する選択毒性の大きい薬剤を投与して毒素の産生を抑えれば、病状は軽減し、治癒に向うのである。

ところが後者の場合では、ウイルス粒子（ビリオン）は生きた細胞の中でのみ増殖する。先ずウイルスに感染すると、宿主体の中で親和性のある臓器細胞の表面の receptor に吸着し、細胞内に侵入してカプシドを脱ぎ、裸核となつて宿主細胞の核或いは細胞質内で増殖し、成熟すると多くは宿主細胞質膜を破り膜外に放出される。そこで薬剤の効力を高めるためには、裸核のウイルスに作用させることが望ましいが、ウイルスの種類によつては envelope, 細胞膜、核膜などに包まれるか budding の形態をとり、直接核に触れることが少ないので効力が劣ることも考えられる。

ウイルスは大別して DNA ウイルスと RNA ウイルスに大別できる。DNA ウイルスでは核酸合成機構は宿主のそれとほとんど同じと考えられる。したがつて宿主の機能をそのまま使うことができる。

ところが RNA ウイルスでは核酸の合成に必要な酵素のほとんどは宿主細胞には存在せず、ビリオンの中にあるかまたは感染宿主細胞内で誘発されることが明かになつてきた。したがつて RNA ウイルスの増殖に際して、宿主に依存する部分は DNA ウイルスの場合よりも遙かに少なく、宿主機能とは別個の増殖機構をもつて選択毒性のある薬剤の発見される可能性がでてくる。

2) 抗ウイルス物質

今日まで抗ウイルス性化学療法剤の研究が行われてきたが見るべき成果があがつていない。ところが最近 HSV 感染症などに有効な治療薬として Ara-A を中心とする核酸類似体が注目されている。また Rhino ウイルス、日本脳炎ウイルスなどの治療剤も研究が進んでいる。

(1) Ara-A⁵⁾ (9- β -D-Arabinofuranosyladenine, Vidarabin)

DNA 型ウイルス Herpes simplex (HSV) に罹患すると小児では水痘および屢々脳炎をおこす。大人では帯状ヘルペスを見るが、この場合小児期に必ず水痘に罹つた前歴があるといわれる。大谷ら⁶⁾の最近の報告によれば、全国的に Ara-A を用いて HSV 脳炎の治療を行い、良い成績を得ている。投与後90日目の成績によると対照群の死亡率33%に対して Ara-A 投与群では8%に減少し、後遺症も軽度であつたという。Ara-Aこそ

ウイルス感染症が治癒した最初の薬剤であるという。Ara-A の類似体として Ribavirin⁷⁾ Guanine-acyclovir, F1Ara-C などが有効であるが抗がん作用のある Ara-C, IUDR などは劣る。また Cyclocytidine⁸⁾ は Cyto-megalovirus 感染症に効く。

(2) Flavonoids^{9,10)}

生薬の1種シソ科の全草藿香（かつこう）から抽出した Flavonoid は化学構造が 4', 5 dihydroxy-3,3',7 trimethoxy flavone (R009-0179) であり感冒の病原体 Rhinovirus を含む picorna virus 群に対して選択的な増殖阻止作用を示した。そこで本物質の類似体を多数合成したところ R009-0410 は Rhinovirus のみに作用しまた経口投与ができる誘導体も得られ、将来が期待されている。

(3) Cephalomycin^{11,12)}

われわれは放線菌の生産する物質の中で日本脳炎ウイルス (JEV) に有効な物質を探してきたが、1放線菌の培養母液が抗ウイルス物質を生産していることを発見して有効物質を Cephalomycin (CM) と命名した。

先ず JEV 感染マウス脳を発症後死亡直前に採脳し、生食水を加え磨砕して pH 7.6~7.8 に補正し 18000 r. p. m. で5分間遠心した、上清を菌液とし、これに種々の培養母液を等量混和して氷水中で15分間静置後、0.4 ml をマウス脳内に接種すると3日目に発症して全部死亡するが、母液にウイルスを不活化する物質が含まれているときには延命するか発症せずに生き残る。2週間後の生存数で効果を判定する。この Contact test を用い518株の放線菌の培養母液を調べ、11株 (2.1%) の陽性株を得た。その中で強い不活化作用を示す No. 1120 株の培養母液から有効物質をイオン交換法で抽出して酸性ペプチドの凍結乾燥粉末を得た。LD₅₀=55 mg/kg (IP) であつた。この CM 粗粉末を用いて JEV に対する感染防禦実験を行つたところ効果は治療開始時期に左右された。1群10匹のマウスに 10⁻¹ のウイルス乳剤を IP に接種後 CM 溶液を1日4回5日間投与した場合、ウイルス液接種直後から1回量 6.25 μ g/マウス を投与すると大多数 (8/10~10/10) のマウスは発症を免れたが6時間後では投与量を12.5~25 μ g/マウスに増量しても5/10、12-24時後では4/10以下に減少し48時間以後開始すると発症を抑えることができなかった。したがつて早期治療を開始する必要がある。

III. 結 語

PC が開発されてから既に40年を経過している。その

ご SM をはじめ優れた抗生物質が続々と登場して細菌感染症は急速に減少した。わが国は進駐軍の好意によって終戦後間もなく PC の大量生産に成功し、続いて SM の生産も順調に進み、結核の死亡率は急速に減少し、屢々問題となる耐性菌、日和見感染の出現も大事に至らず、今や感染症の主流はウイルスに移っているが、これが対策は治療よりもワクチンによる予防に頼っているのが現状である。かかるときにインターフェロンおよびそのインジューサーが問題となり、近い将来治療に役立つ可能性がでてきた。然しウイルス感染症では症状が現われてきたときには既に体内でウイルス増殖がピークに達しているので早期発見とともに早期治療が困難である。これは丁度火災のときの焼け跡のようなもので、治療は細菌感染症に比べて仲々難しい。幸に最近 Ara-A を中心とする抗ヘルペス剤が開発されてきたのでこれを橋頭堡にして抗ウイルス剤の研究の発展を望む。

文 献

- 1) Yagisawa, Y.: The early history of Antibiotics in Japan, The history of antibiotics a Symposium edited by John Parascandola, American Institute of the history of pharmacy, Madison, WI, 1980.
- 2) Hata, T. et al.: Isolation of a new antibiotic substance "Luteomycin J. Antibiotics, **III**", 320-325, 1949.
- 3) Hata, T.: Leucomycin, a new antibiotic, J. Antibiotic, **VI**, 87-89, 1953.
- 4) 橋本 紘: RNA 型ウイルスの増殖と核酸合成酵素 (綜説) 北里メデイカルニュース **22**, (No. 250) 1-15, 1975.
- 5) Erik De Clerce: Specific Targets for antiviral drugs (Review) Biochem. J. **205**, 1-13, 1982.
- 6) 大谷杉士, 其他: Ara-A による単純ヘルペスウイルス脳炎治療の臨床試験成績, 感染症学雑誌, **56**, 799-823, 1982.
- 7) Smith, R. A. et al.: Ribavirin, A broad spectrum antiviral agent, 237, Academic press, New York, 1980.
- 8) 藤井良知, 其他: 小児のヘルペス科ウイルス感染症に対する Cycloctidine の抗ウイルス効果の臨床的検討 J. J. Antibiotics, **XXXV**, 2241-2248, 1982.
- 9) Ishizuka, H. et al.: Antipicornavirus Flavone R009-0179, Antimicrob. Agents Chemotherapy, **25**, 611-616, 1982.
- 10) ibid: Direct and specific inactivation of Rhinovirus by Chalcone R009-0410, Antimicrob. Agents Chemotherapy, **25**, 617-621, 1982.
- 11) Matsumae, A. and Onuma, M.: Cephalomycin a new antiviral antibiotic I and II, J. Antibiotics, **XIII**, 1-12 and 273-286, 1960.
- 12) Hata, T., et al.: An antiviral antibiotic III, J. Antibiotics, **XVI**, 121-126, 1963.