

<資料>

カナマイシン発見後の予研抗生物質部の思い出—発見 60 周年に寄せて

小河原 宏

HO Bio 研・明治薬科大学

(2017 年 7 月 14 日受付)

1. はじめに

本年は、梅澤濱夫先生が日本初の本格的抗生物質であるカナマイシン (Kanamycin, KM) を 1957 年に発見¹⁾されてから 60 周年になる。このご業績により、先生は 1962 年日本学士院賞および文化勲章を授与された。筆者は、東京大学 (東大) 医学部薬学科から化学系大学院博士課程を中退し、KM が発見されて間もない 1960 年に梅澤先生が部長であった国立予防衛生研究所 (予研; 現国立感染症研究所) 抗生物質部に入所し、梅澤先生の指導の下に抗生物質の探索研究などに従事した。これは微生物化学研究所 (微化研) 開設の 2 年前である。KM 発見 60 周年の機会に、当時の予研抗生物質部の状況などについて述べる。

2. 1960 年当時の予研抗生物質部

筆者が入所した当時の予研抗生物質部は、まだ東大伝染病研究所 (現医科学研究所) の西門に近い建物の 3 階と、旧馬小屋を改築し 400L の発酵槽を設置した建物を間借りした状況であった。すでに一部移転していた旧海軍大学校跡地 (品川区上大崎、JR 目黒駅近く) に 7 月に移転することになっていたが、筆者は発酵槽のある建物の 2 階に一時的に在室した。入所早々、梅澤先生は大変忙しい時間を割いて発酵槽のある建物から 3 階の抗生物質部実験室を隈無く案内して下さり、大変温かく処遇して頂いた。入所の手続きはその年の 2 月中頃に始めたが、事務手続きに手間取ったため採用は 5 月になってしまった。梅澤先生は履歴に空白が出来るのは後々具合が良くないと云われ、ご厚意で東大大学院の半年分の授業料を払って下さり、東大に在籍しつつ 3 月から予研に通勤し始めた次第であった。当時の抗生物質部は、菌学室 (室長: 岡見吉郎博士)、化学室 (室長: 前田謙二博士)、生物室 (室長: 竹内富雄博士)、中間培養室 (室長: 大里悌輔博士) のほか、抗生物質の国家検定を担当する検定室 (室長: 山崎正郎博士) の 5 室からなっていた。筆者の所属する化学室の前田室長は米国ボストンの MIT のシーハン教授の下に留学中で、滝田智久博士 (日本化薬)、村瀬正夫博士 (明治製菓)、大井小二三氏 (後の前田博士夫人) および近藤廣子氏 (近藤信一博士夫人) の 4 名が在籍していた。ルーチンワークとして、毎週数株の放線菌株が菌学室から配布され、その生産抗生物質の同定 (新規の抗生物質であれば単離してその物理化学的、生物学的性質を明らかにすること) が行われた。男性は他に、それぞれに単独のテーマが与えられて研究に当たっていた。生産菌はもっぱら *Streptomyces* 属放線菌が対象とされ、グラム陽性菌、グラム陰性菌および結核菌に対する抗菌物質の探索、担癌動物と癌の培養細胞を用いる新規制癌抗生物質の探索 (後のプレオマイシンの発見に繋がった)、新規農薬の探索 (後のカスガマイシン発見に繋がった) の 3 つの流れからなっていた。ルーチンワークは化学室および生物室に属するすべての職員が担

当し、培養液を濃縮後、溶媒系の入った 1.5cm × 20cm の試験管とゴム栓に挟んだ 1cm 幅の濾紙を用いペーパークロマトグラフィーで展開し、濾紙を溶媒除去し乾燥した後、寒天平板培地で培養した試験菌に対する阻止円を観察する方法で行った。展開溶媒としては水飽和ブタノール、水飽和酢酸エチル、ブタノール:メタノール:水混液、水飽和ブタノール:パラトルエンスルホン酸、50%アセトン水、塩化アンモニウム溶液、メタノール:ベンゼン:クロロホルム:水などの溶媒系を用いることにより、おおよその抗生物質の化学的性質を知ることから始まった。この方法は summarized paper chromatography 略してサンマと呼んでいた。試験菌としてはグラム陽性の枯草菌、グラム陰性の大腸菌、結核菌の代替抗酸菌 *Mycobacterium smegmatis* 607 (M607 と略称)あるいは *M. phlei* が用いられた。両菌は結核菌に比較して培養時間が 2 日間と短く(とは云っても枯草菌や大腸菌は 1 日培養)、抗結核薬探索に非常に利点をもたらした。同時にマウスに対する急性毒性が検討され、低毒性で抗菌力ないしは制癌力の強い物質が標的とされた。しかし微化研が設立後、ルーチンワークは継続されたものの主力は予研から微化研に移っていった。



図1. 1965年頃の予研抗生物質部の陣容
(梅澤先生は出張のためお見えにならない)

3. 水溶性塩基性抗生物質の毒性研究

1951年2月に初のアメリカ視察旅行より帰国された梅澤先生が持ち帰った M607 および *M. phlei* を試験菌として本格的に抗結核薬の研究が始められた。最初に、水難溶性のピリドマイシン(pyridomycin, PY)が発見された²⁾が、動物実験で有効性がなかった。因みに、PY の化学構造の解明⁵⁾と生合成経路の解析⁶⁾は、筆者の博士論文のテーマとなった。次いで、有機溶媒に溶け、結核菌やその他の抗酸菌を低濃度で阻止し、マウス腹腔注射で低毒性のイラマイシン(Ilamycin)が発見された³⁾。また、1956年に水溶性塩基性で、抗酸菌に有効であるが酸に不安定なフレオマイシン(Phleomycin)が発見された⁴⁾。こうした中、動物体内でも結核菌に有効なストレプトマイシン(Streptomycin, SM)⁷⁾やストレプトスリシン B(Streptothricin B, =ネオマイシン Neomycin)⁸⁾が水溶性で塩基性であることから、放線菌がつくる抗生物質のうち水溶性塩基性の物質が集中的に探索された結果、KM¹⁾が発見されたのであった。水溶性塩基性抗生物質の多くは腎毒性および聴覚障害を示す^{9,10)}が、KM は腎毒性が少ない物質であった。特に、ストレプトスリシン(Streptothricin, ST)^{11,12)}はマウスに注射して3~7日後に死亡する毒性である遅延性毒性を示す¹³⁾が、筆者に与えられた最初のテーマはこの ST の遅延性毒性を低減する物質の探索であった。これは、梅澤先生がかつて *S. roseochromogenus* のつくる水溶性塩基性抗生物質を研究中、粗

粉末では遅延性毒性を示さず、精製するとともに遅延性毒性が高まることを経験しておられたことから、この放線菌生産物中に遅延性毒性を低下させる物質が存在するとのアイディアに基づくものであった。この遅延性毒性は腎毒性の結果起こるものと考えられ、この遅延性毒性抑制物質は、水溶性塩基性抗生物質で一般的に見られる腎毒性⁹⁾を低減する可能性がある。そこで、培養液をイオン交換樹脂などで分画し、抗菌活性画分とそれ以外の画分を色々組み合わせて、マウスの尾静脈に注射し、遅延性毒性低下を解析した。マウス尾静脈への注射は生物室の竹内富雄博士の指導の下で行ったが、注射の際、培養液などが尾静脈から少量でも漏れると尾が壊死を起して切れてしまうことを経験し、細心の注意を要した。結果的に、培養液からはこのような遅延性毒性抑制物質は単離出来なかった。そこで、戦略を変更した。一般に薬物は、グルクロン酸抱合、硫酸抱合、グリシン抱合などの誘導体を経て解毒、代謝される。グルクロン酸抱合の場合、グルクロン酸は UDP-グルクロン酸からグルクロン酸転移酵素により薬物に転移されることから、各種ピリミジン誘導体の遅延性毒性低減作用を検討した。その結果、ウラシル、オロチン酸、2-アミノ-4,6-ジクロロピリミジンなどが遅延性毒性低減作用を示すことを発見した¹⁴⁾。

4. お調べと「抗生物質の話」

筆者が予研に入所して数ヶ月経過した頃であった。梅澤先生が朝一番に化学室に来られ、仕事の話を開かせてほしいとのことであった。その頃はまだ「お調べ」と称して、年に数回そのようなことが行われていた。筆者にとっては初めての経験で、約 A4 判の旧タイプライター用紙サイズの予研名入り実験ノートを直接お見せしたところ、朝 9 時過ぎからここはどうかあそこはどうかと実験方法と結果を詳細に検討して下さった。実験ノートのあちを開いたりこちを開いたり徹底的に調べられ叱られた。午後 1 時頃になって先生は「それでは僕はちょっと食事をしてくるからね」と云って出かけて行かれた。しかし筆者の方は食事など喉を通るわけがなく、「ボッー」と先生のお帰りを待っている状態であった。30 分程で先生が戻ってこられ、また「お調べ」が再開され、結局 4 時過ぎまで続けられ、筆者は完全にグロッキーになってしまったのであるが、初めて先生の仕事に対する厳しき、情熱などを見せられ、感激するとともに大学を出て数年の若輩者に対してもこれだけ長時間直接ご指導を頂ける幸せを感じたものである。その後抗生物質部に入所してきた正規の職員に聞いても、この「お調べ」のことを知らないの、筆者が最後になり、この方式は微化研の方に移行していったのではないかと想像された。

梅澤先生との出会いで今でも特に印象深く記憶に残っていることは、先生がお書きになった岩波新書の「抗生物質の話」106 ページに載っている記事の原稿に関することである。1962 年 12 月が初版であるから、1962 年の中頃であったか、化学室にお見えになった梅澤先生は、筆者に向かって「君、メッセンジャー RNA 上でアミノ酸-s-RNA が配列して蛋白質が合成されるので間違いがないね？」とお聞きになったと記憶している。当時は t-RNA のことを s-RNA と称しており、蛋白質合成系が明らかになって数年しか経っておらず、特に興味を持って勉強していなければ知らない新しい知見であった。たまたま筆者は、出席させてもらっていた予研化学部の水野伝一先生のセミナーでこのような話を聞いていたのでお答えすることができた。とはいえ、20 歳以上も年下の筆者にこのようなことを聞かれるとは、知識の吸収には年齢は関



図2. 1960年頃梅澤先生の直々のご指導を仰ぐ筆者 (1987年1月12日朝日夕刊)

係のないという至極当然のことを当たり前にはされずとも、数週間後には筆者より数倍、数十倍の知識を取得されている梅澤先生の偉大さに改めて尊敬の念を抱いたものである。

5. おわりに

筆者は KM 発見直後に梅澤濱夫先生が部長の予研抗生物質部に入所するという幸運に恵まれた。しかし、当時の予研では KM に関連した雰囲気というものはほとんど感じられず、既に次の態勢に移行していたと記憶している。本稿では KM 発見の場となった予研抗生物質部の当時の状況、3つの大きな研究の流れのうち結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* に代わる抗酸菌 M607 あるいは *M. phlei* を取得しての、低毒性で結核菌に有効な水溶性塩基性抗生物質である KM の発見に至る梅澤濱夫先生の独創性と先見性、これに関連して筆者が関与した水溶性塩基性抗生物質であるストレプトスリシンの低毒性化の研究、先生の研究に対する情熱を示すエピソードの一端を述べた。

利益相反自己申告： 申告すべきものなし

文献

- 1) Umezawa H, Ueda M, Maeda K, *et al.*: Production and isolation of a new antibiotic, kanamycin. J Antibiot. 1957; 10A: 181-8.
- 2) Maeda K, Kosaka H, Okami Y, *et al.*: A new antibiotic, pyridomycin. J Antibiot. 1953; 6A: 140.
- 3) Takita T, Ohi K, Okami Y, *et al.*: New antibiotics, ilamycins. J Antibiot. 1962; 15A: 46-8.
- 4) Maeda K, Kosaka H, Yagishita K, *et al.*: A new antibiotic, phleomycin. J Antibiot. 1956; 9A: 82-5.
- 5) Ogawara H, Maeda K, Koyama G, *et al.*: The chemistry of pyridomycin. Chem Pharm Bull. 1968; 16: 679-87.
- 6) Ogawara H, Maeda K, Umezawa H: The biosynthesis of pyridomycin. Biochem. 1968; 7: 3296-302.
- 7) Schatz A, Bugie E, Waksman SA: Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Proc Soc Exp Biol Med. 1944; 55: 66-9.
- 8) Umezawa H, Takeuchi T, Kurosu E: Studies on streptothricin-group substances. On streptothricin A and streptothricin B. Jap Med J. 1949; 2: 9-15.
- 9) Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, *et al.*: New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrating point of view. Kidney Intern. 2011; 79: 33-45.
- 10) Kawasaki T, Steyger PS: Intracellular mechanisms of aminoglycoside-induced cytotoxicity. Integr Biol. 2011; 3: 879-86.
- 11) Waksman SA, Woodruff HB: Streptothricin, a new selective bacteriostatic and bactericidal agent, particularly active against Gram-negative bacteria. Proc Soc Exp Biol Med. 1942; 49: 207-10.
- 12) Heilman DH: Cytotoxicity of streptomycin and streptothricin. Proc Soc Exp Biol Med. 1945; 10: 365-7.
- 13) Taniyama H, Sawada Y, Kitagawa T: Characterization of racemomycin. Chem Pharm Bull. 1971; 19: 1627-34.
- 14) Ogawara H, Takeuchi T, Umezawa H: Pyrimidine compounds reducing toxicity of a streptothricin. J Antibiot. 1962; 15: 137-40.