

<資料>

カナマイシン不活性化機構の解明への道を拓く—岡本季彦先生の足跡—

三瀬勝利、鈴木義昭、近藤信一、堀田国元

元国立予防衛生研究所

(2017 年 12 月 1 日受付)

1. はじめに

岡本季彦先生は、梅澤濱夫先生の後を継いで国立予防衛生研究所(予研)の第2代抗生物質部長を1978年10月から5年間務められた。1960年代の始め、抗生物質耐性菌の耐性因子(R因子)が世界的にホットな研究課題であったとき、予研化学部に在籍されていた岡本先生は鈴木義昭博士(筆者の一人)とともにR因子を導入した大腸菌がクロラムフェニコール(Chloramphenicol; CP)やカナマイシン(Kanamycin; KM)を酵素的に不活性化することを世界に先駆けて解明された。Nature に発表されたその報告¹⁾(1965年12月)は世界的な反響を呼び起した。当時は、KMが臨床使用され始めてから8年ほど経過し、臨床由来のKM耐性菌が出現し始めたときであった。岡本先生は梅澤先生にKM不活性化について相談され、そのことが契機となって梅澤先生は臨床由来のKM耐性菌の研究を開始され、耐性機構を明らかにするとともに、耐性を克服するKM誘導体を創製する研究へとつなげていかれた。

岡本先生は平成17(2005)年に81歳でこの世を去られたが、翌年ご遺族によって先生の一生が描かれた「思い出 岡本季彦追悼集²⁾」がまとめられた。その中に収められた筆者らによる抗生物質耐性関連の追悼文をご遺族の許可を得てKM発見60周年記念特集に編集収載させていただいた。

2. 耐性菌の持っている仕組みを解明できた日々: 鈴木義昭(2006年)

1963年に、予防衛生研究所内で抗生物質の作用と耐性菌の問題についての小さなシンポジウムが開かれ、岡本先生と私とはまったく別のグループとして、それぞれの研究について短い発表を行いました。その時に岡本先生が用いておられた方法は、1960年頃に米国で開発された無細胞蛋白質合成系を利用して、感受性菌と耐性菌とから作成した無細胞系の能力が、抗生物質によってどのように影響を受けるかをテストするものでした。先生は、何度もテストしましたが両菌の間に差がなく、困っておられました。私は、この方法がたいへん有力なものと考えていたので、シンポジウム後、弟子入りして教えていただくことにし、その後、一緒に研究をして苦楽を共にすることになったのでした。

二人で手分けした実験を行って結果を報告しあって、「また駄目ですね」という日々が1年余に及んでいました。先生にとっては3年近くになっていたのだと思います。先生の口から暴言が飛び出したのは、そんなある日のことでした。

「先生、今日は何を試しましょうか」

「鈴木さん、男の子でしょう。知恵を出しなさいよ、知恵を」

「そう言われましてもね…」

当時、化学部には若くてバリバリの女性研究者が何人もおり、すべての研究室のドアは解放されたままの出入り自由の場でした。誰に聞きとがめられても仕方のない場でこの暴言が飛び出すほどに、先生は追い詰められていたのか、それとも私は本当にどうしようもない若者と思われていたのか、む、む、む、……。そして、別のある日、岡本先生と部長の富澤先生との会話を拝聴することになる。

「研究者としては、良い結果が出せない期間は何年くらい許容されるものなのでしょうね」

「3年で一つ良い論文が出せればいいではありませんか」

「3年ですか。結構厳しいな。3年で駄目なら辞めるのが筋ですかね」

「いや、6年で二つ分くらいの発見が出来れば良いと思いますけど」

「二つ分か。その辺が年貢の納め時ですかね」

「いや、9年で三つ分でも良いのではないですか」

「9年経っても埒が明かなければ、いよいよでしょうね」

「一寸それ以上はね」

以来、この会話の内容は、私にとっての大切な指針となった。もちろん、岡本先生にとっても。この会話の粘り強さは、ソドムの滅びの予告に際して、アブラハムが、街の義人の数が50、45、40、30、20、10人ならば勘弁してもらえないかと値切っていた姿を彷彿とさせた。

そんなある頃、岡本先生が体調を崩して、1週間ほど休まれたことがあった。先生が休まれても、研究は続けねばならない。その時、実験に用いていた塩化マグネシウム液が底をついたので、作り直すことにした。試薬室に行くと、ビンが見当たらない。三浦君に聞いてみると、空になったので注文はしたが、納入は数日先になるとのこと。そんなに待ってられない。他の部に行って借りることはできたのに、気が急いで、酢酸マグネシウムで代用することにし、実験を続けた。すると、あれ程、来る日も来る日も、感受性菌由来の抽出液と耐性菌由来のものとの間に差が出なかったのに、遂にくっきりとした差が出た。耐性菌由来の抽出液の系ではクロラムフェニコールが効かないことがはっきりと出た。ついにやった。実験を繰り返しても、また同じ結果が出る。

富澤先生の定期巡回の時、

「今日はどうですか」

「先生、それが差が出たんですよ。再現性もあります」

「それは良かった。先生が休んでいる方が良いということもあるんだね」

そして、岡本先生が元気で戻ってこられる日を心待ちにしていた。数日後、先生の顔をみるなり、

「先生、見てください。ものの見事に差が出たんですよ」

「鈴木さん、そんなはずはありませんよ。あれ程二人して、手を変え、条件を変えて、何百回も試して差がなかったではありませんか」

「でも、確かにはっきりとした差が出たんですよ。再現性もあるんですよ」

「おかしいなあ」

「この差を出したくて、二人でやってきたんですよ。よろこんでくれないんですか」

「う〜ん・・・まあ、とにかく、私が実験してみしょう」

そして、翌日。

「先生、どうでした」

「おかしいなあ。確かにはっきりした差が出ますねえ」

「そうですね。遂に突破口が開けたのですよ」

「おかしいなあ。鈴木さん、何かやったでしょう」

「何もしてませんよ。いつもと同じですよ。ただ、塩化マグネシウムが品切れだったので、酢酸マグネシウムで代用してありますけどね。モル数はきっちり合っていますよ」

「当たり前…ああ、やっぱり何かやったんですね。それが原因ですね」

「僕が考えるに、アセチル化反応が、どこかのステップで関係していると思うんですけど」

「そんなことは当たり前でしょ」

この日以降、試すことは当たり前に当たり、5つの論文が矢継ぎ早に発表できることになった。その最初の論文が Nature 論文である。思えば、41 年昔の発表である。



3. 薬剤耐性機構解明の先駆者 岡本季彦先生： 近藤信一 (2005 年)

ペニシリンなどの β -ラクタム抗生物質の耐性は、その発見当初より β -ラクタム分解酵素によることが知られていました。1960 年代に入ってクロラムフェニコール (CP)、テトラサイクリン (TC)、ストレプトマイシン (SM) などの抗生物質の臨床使用が増加し、それらの多剤耐性が問題となりました。この多剤耐性は R 因子と名づけられた核外遺伝子 (現在はプラスミドと呼ばれる) が細胞間の接合によって他の細菌に伝播することが、わが国の研究者により明らかにされました。

この時期に、予研化学部におられた岡本季彦博士は、1965 年 12 月 25 日号の英国科学雑誌ネイチャーに R 因子を導入した大腸菌の多剤耐性は CP、ジヒドロストレプトマイシン、KM をそれぞれ不活性化する酵素によることを鈴木義昭博士と連名で報告し、全世界の注目を集めました^{1,3)}。この研究に使用された大腸菌は、臨床分離の多剤耐性の赤痢菌から R 因子を伝達して得られた耐性菌で、無細胞系による実験で証明されました。この論文の中で CP と KM の耐性はアセチル化による不活性化であることを示唆されました。CP については岡本先生ご自身により後に 2 種類の酵素的な不活性化物を分離して 3-O-アセチル体と 1,3-O-ジアセチル体であることを報告されました⁴⁾。

岡本先生は、KM について発見者である梅澤濱夫先生 (当時、予研抗生物質部長) に相談されました。丁度、KM の発売 10 年を控えてカナマイシンの耐性機構の解明を計画しておられた梅澤先生は、早速筆者を呼んで KM の不活性化物を分離して構造決定することを命じられました。筆者はこの機会にはじめて岡本先生とお会いし共同研究することができました。現在のような機器分析を使用できない時代で、全くの化学的分解によって不活性化物の構造を 6'-N-アセチル体であると証明しました^{5,6)}。

岡本季彦先生が拓かれたこの修飾酵素による薬剤耐性機構の研究は、梅澤先生らのアミノグリコシド抗生物質のリン酸化やヌクレオチジル化などによる不活性化の研究の端緒となり、更に耐性菌にも有効な KM 誘導体 (ジベカシン、アルベカシン) の研究に発展しました。

岡本先生は晩年 (1998 年)、筆者が勤務していた微生物化学研究所に来られて、大腸菌のある株がつくる微量の抗菌物質がアミノグリコシド抗生物質であると思うので抽出、精製したいとご相談を受けました。この研究は成功しませんでした、ご高齢になってからも研究に対する情熱を強くお持ちで、お一人で培養、検定、抽出実験を繰り返しておられたお姿を思い起こし改めて敬意を表します。

4. 岡本季彦先生のお人柄と鈴木・岡本の発見の重要性*: 三瀬勝利(2006年)

2005年の2月下旬、突然に予研時代の同僚であった高橋佐喜子さんと増田(三浦)明子さんから岡本先生の訃報を聞きました。「元気で過している」というお年賀を先生からいただいて間もないこともあり、意外なことが起こったというのが最初の思いでした。やがて、聖者そのものというべき方と再び会い見えることが出来ないと思うと、表現の使用もない悲しみが湧いてきました。先生にご迷惑をおかけしたという負い目が悲しみを増幅させたようです。

岡本先生は世にも稀な無私の聖者であり、うそをついたり、策を弄したり、相手の足を引っ張る方ではありませんでした。この点では先生の知己の方の意見は完全に一致しています。ただし、先生が良からぬことを行う遺伝子を生来持っておられなかったのか、それとも良からぬことを行いたいという誘惑を強い意志の力で押さえこんでおられるのか、という点で弟子たちの意見は分かれるようです。

私が始めて岡本先生の研究室をお邪魔したのは、今から約40年前の1966年のことだったと思います。予研に入所して3年目のことです。先生はその1年前に共同研究者の鈴木義昭博士とともに、抗生物質クロラムフェニコールやカナマイシンの抗菌効果をなくしてしまう酵素を大腸菌の中から発見され、その成果を世界一権威の高い学術雑誌Natureに発表され、内外の注目を集めておられました。

岡本先生はクロラムフェニコールの抗菌作用を無くする酵素が、大腸菌以外の細菌にどの程度分布しているかに興味をもたれたようです。しかし、先生の所属は化学部に種々の細菌を持っていないところでした。幸い当時の予研細菌部には、先生と大学同期の中谷林太郎先生がおられ、赤痢菌やサルモネラなどの病原菌の薬剤耐性機構の研究で活躍しておられました。そこで、岡本先生が旧友の中谷先生に共同研究を申し込まれ、このテーマに中谷先生も興味を持たれて共同研究が開始されました。その結果、中谷門下の私が岡本先生の部屋に細菌を持ち込んで酵素の分布状況を調べることにになったというのが、岡本先生とお付き合いするに至った経緯です。

岡本・鈴木の発見は、日本細菌学会昭和45年度浅川賞受賞³⁾を両者にもたりましたが、20世紀後半になされた世界の微生物分野におけるもっとも優れた研究であるとともに、発見された酵素遺伝子は今日でもバイオテクノロジー技術の有用な道具になっています。抗生物質が効かなくなっている今日、先生達の先駆的な業績は一段と重要性を増しています。自らを誇られることのなかった先生だけに、友人の中には先生の業績を理解されていない方もおられますが、後世に大きな影響を与えた偉大な業績であったことは、どのように強調してもし過ぎることはないと思っています。

*原タイトルは、「手ぬぐいこそわが命」であったが、抗生物質関連のところのみ抜粋したので改題させていただいた。

昭和45年度浅川賞受賞記念講演

R 因子耐性菌のクロラムフェニコール、ジヒドロストレプトマイシン、およびカナマイシン不活性化酵素について

岡本季彦 鈴木義昭

国立予防衛生研究所化学部、同放射能管理室

〔受付：10月20日，1970年〕

表3 K12(R5)，K12(R4) および K12 CS-2 の“DC”分画によるKM不活性化の比較¹⁾

“DC”分画	系	KM 不活性化 ($\mu\text{g}/2\text{mg}$ 蛋白/45分)
“R5”	完全系	60
“R5”	-CoA	8
“R5”	-ATP, CrP, CrK	0
“R4”	完全系	0
CS-2	完全系	0

完全系は表1と同じ Tris-酢酸 Mg-KCl 系に ATP 10 μ モル，クレアチンリン酸 (CrP) 4 μ モル，クレアチンキナーゼ (CrK) 60 μg 蛋白，CoA 0.04 μ モル，KM 60 μg 各 “DC” 分画 2mg 蛋白を含む (CrP, CrK は ATP 再生系として加えた。) 以下は表1と同じ。

岡本季彦先生の「未完の遺稿」

**The Biological Significance
of
Microbial Antibiotic Production****Antibiotic-like activities produced by *E. coli* K12
under amino acid deprived conditions
and their possible role as metabolic regulators****Suehiko Okamoto**

この論文は、父が死の直前まで手直しをしていた未完の論文です。国立予防衛生研究所を退職して以後の晩年の約20年間、いくつかの研究所で実験を続けていた研究成果の一部をまとめたものです。生前しきりに「この研究が後世の研究にとって何らかのヒントになることがあれば」と言っておりしました。「思い出 岡本季彦追悼集」p.61

「未完の遺稿」についての追記 三瀬勝利(独)医薬品医療機器総合機構 顧問

本論文は1980年代の初めから2000年前後までの約20年間にわたって、岡本季彦先生が自ら実験をされてきた研究成果の一つを纏められようとして、未完成に終わったものです。実験が行われた研究施設は、国立公衆衛生院(現・国立保健医療科学院;1980年代前半)、国立衛生試験所(現・国立医薬品食品衛生研究所;1980年代後半から1990年代後半)、及び微生物化学研究所(1990年代後半から2000年)の3カ所です。先の二つの研究所では、私が室長、もしくは部長として研究していただきました。微生物化学研究所では、先生の恩師であられる水野伝一東大名誉教授と近藤信一博士のお世話を受けられたようです。

先生が何分にも忙しい臨床現場の仕事を抱えておられ、かつ、申し訳ないことには助手も使えず、単独で実験をされていたために、論文を纏められるのに時間がかかってしまわれたようです。その上、研究テーマ自体が壮大なもので、簡単には多くのデータが得られる性質のものではなかったはずです。

岡本先生が本論文に書かれている実験を思い立たれたわけは、微生物が抗生物質などの抗菌物質を作る目的と意義について、これまでの仮説に不満を持たれていたことにあるようです。有力な仮説の一つによれば、微生物が抗菌物質を作るのは、生存競争の相手となる他の微生物を抑制することによって、自分の子孫の繁栄をもたらすためと説明されています。しかし、先生はこうした仮説は説得力がないと判断されたようです。先生のお考えでは、微生物が抗菌物質を作るわけは、生育に不利な環境が来ると、微生物自身は自ら抗菌物質を作って、タンパク質の合成を止め、増殖しないでじっと静かにして厳しい環境を凌ぐというものでした。

本論文ではその証明の一環として、抗菌物質を作らないと考えられている大腸菌でも、生育に適さない厳しい環境に置くと、抗菌物質(テトラサイクリン系の抗生物質)をつくっていることを示されたものです。

先生の突然のご逝去で、未完成論文になってしまったことは残念なことでした。せめて先生の独創的なお考えを後世へのメッセージとして伝えられればと思っておりましたが、鈴木義昭先生より「未完の遺稿」として、この追悼集に掲載してはどうかというご提案を頂き、ご遺族の方々の熱意によって、目の目を見たことで、いささか安堵しています。

(「思い出 岡本季彦追悼集」pp.93-94)

利益相反自己申告：申告すべきものなし

謝辞

岡本季彦先生の一生が描かれた「思い出 岡本季彦追悼集²⁾」をご提供いただいた岡本先生ご遺族のご厚意に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Okamoto S, Suzuki Y: Chloramphenicol-, dihydrostreptomycin-, and kanamycin-inactivating enzymes from multiple drug-resistant *Escherichia coli* carrying episome 'R'. *Nature* 1965; 208: 1301-3.
- 2) 岡本季彦遺族一同:「思い出 岡本季彦追悼集」、平成 18 年 10 月 14 日発行。
- 3) 岡本季彦、鈴木義昭: R 因子耐性菌のクロラムフェニコール、ジヒドロストレプトマイシン、およびカナマイシン不活性化酵素について。日本細菌学雑誌 1970; 25: 581-90.
- 4) Suzuki Y, Okamoto S: The enzymatic acetylation of chloramphenicol by the multiple drug-resistant *Escherichia coli* carrying R factor. *J Biol Chem.* 1967; 242: 4722-30.
- 5) Okanishi M, Kondo S, Suzuki Y, Okamoto S, Umezawa H: Studies on inactivation of kanamycin and resistances of *E. coli*. *J Antibiot.* 1967; 20: 132 -5.
- 6) Umezawa H, Okanishi M, Utahara R, Maeda K, Kondo S: Isolation and structure of kanamycin inactivated by a cell free system of kanamycin resistant *E. coli*. *J Antibiot.* 1967; 20: 136-41.