

鎖状テルペンアルコールの抗ブドウ球菌作用と作用機構に関する研究

富樫 直子

緒言

高齢化や医療の高度化が進む一方で、易感染性宿主の増加が顕著である。こうした状況は、院内感染をはじめ、様々な感染症に対するリスクを高めている。黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)はヒトの常在菌でありながら、 α 毒素やロイコシジン、腸管毒素 A をはじめとする様々な毒素を産生し、化膿性疾患や食中毒の原因菌となっている。また、*S. aureus*、緑膿菌及び霊菌等は、抗菌薬の使用とともに次々と薬剤耐性を獲得してきた。多くの耐性菌の薬剤耐性機構は薬剤分解酵素産生によるものである。なかでもメチシリン耐性 *S. aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ;MRSA)は、薬剤分解酵素産生性に加え、変異したペニシリン結合タンパクを産生するため、メチシリンばかりでなく多くの β -ラクタム薬にも耐性を示す。そのため、選択可能な抗菌薬が少なくなっている。有効かつ副作用が少ない薬剤を求め、抗菌性物質の探索は微生物代謝産物以外についても精力的に行われ、各種植物成分の抗菌性が報告されてきた。

一部の植物から得られる精油は、民間薬として使われており、経験的に抗菌作用や抗炎症作用などの効果を持つことが知られている^{a)}。精油は様々な化合物よりなる混合物で、主な成分として揮発性のテルペン類が知られている。これまで環状テルペンの抗菌性に興味もたれ、抗菌作用などが報告されてきた。多くのテルペン類は疎水性化合物であるため、同一化合物の抗菌活性の評価が報告により異なるといった問題が指摘されていたが、振盪しながら経時的に濁度を測定する方法が提案され、疎水性のテルペンアルコールである farnesol や plaunotol の顕著な増殖抑制効果が報告されている。Farnesol の作用機序については、細胞膜の損傷作用^{b)}や HMG-CoA reductase 阻害作用^{c)}が示されているが、まだ不明な点が多いのが現状である。

本研究ではテルペン類の抗菌力を明確にするため、鎖状テルペンアルコールの抗 *S. aureus* 作用を詳細に検討し、明確にした。さらに作用機構を解析し、抗菌薬としての応用の可能性について検討した。

第一章 長鎖アルコールの *S. aureus* に対する抗菌作用

鎖状テルペンアルコールの抗菌作用は化合物によって大きく異なっている。抗菌作用の強さを決める要因を調べるために、構造上の特徴である炭素鎖に注目した。鎖状テルペンアルコールと同じように長い炭素鎖を持つ飽和長鎖脂肪族第一級アルコール（以下長鎖アルコールと略す）を用いて、低濃度領域での *S. aureus* に対する抗菌作用を測定した。抗 *S. aureus* 作用は、長鎖アルコールを作用させることによることによって生じた増殖の遅れを delay in proliferation(DP)として計算した。その結果、長鎖アルコールの抗 *S. aureus*

作用は、Shikkema らが提唱する分配係数ではなく^{d)}、構造中の carbonyl 炭素から結合末端炭素までの長さによって決定づけられることを明らかにした¹⁾

第二章 鎖状テルペンアルコール及び長鎖アルコールの細胞膜損傷作用

S. aureus は外膜を持たないので、物質の透過は細胞膜により調節されている。鎖状テルペンアルコールを添加した直後に、*S. aureus* 菌懸濁液中のカリウムイオン濃度が急激に上昇したことから、細胞膜の損傷が起きていることがわかった。そして、細胞膜損傷作用の強さは構造中の炭素鎖長によって変わることを明らかにした²⁾。さらに、farnesol による細胞膜損傷機構を調べるため、細胞膜の流動性変化を電子スピン共鳴によって測定し、脂質二重膜の流動性が向上している結果を得た。活性酸素が発生していないこと、カリウムチャンネルが標的になっていないこと、細胞膜を安定化させる化合物の添加によって farnesol の抗 *S. aureus* 作用が減弱することを確認した。これらの結果から、farnesol は細胞膜の脂質二重膜に非特異的に入り込み、規則正しく並んでいた細胞膜の流動性を向上させ、膜構造の損傷を引き起こしていることが強く示唆された³⁾。

第三章 鎖状テルペンアルコールを組み合わせた時の *S. aureus* に対する作用

ウサギ血液に対して鎖状テルペンアルコールが溶血作用を示すことを確認した。これは、ヒトの細胞に対しても損傷を与えることを示すものである。そこで、抗 *S. aureus* 作用を損なうことなく、安全な臨床応用を可能にする方法を検討した。炭素鎖長の異なる精油成分を組み合わせることで細胞膜損傷作用が減弱するかを調べた。細胞膜損傷作用の低い geraniol を farnesol と同時に *S. aureus* に作用させたところ、カリウムイオン流出が減弱していた。また、溶血作用が減弱する一方で抗 *S. aureus* 作用が増強しており、抗 *S. aureus* 作用を増強させながら、副作用を軽減できることを見いだした。このように、複数の鎖状テルペンアルコールとの組み合わせによる臨床応用への可能性を明らかにした⁴⁾。

総括

Farnesol をはじめとする鎖状テルペンアルコールの抗 *S. aureus* 作用は、分配係数に支配されるという考え方ではなく、炭素鎖長が重要であることを証明した。そして、炭素鎖の長さによってユニークな性質、すなわち膜損傷作用及び膜保護作用を示すことも明らかにした。さらに、テルペン化合物などの組み合わせにより副作用の軽減及び抗菌作用の増強も可能であることを初めて明らかにした。これにより、耐性化が進んだ *S. aureus* に対して、効果的な抗 *S. aureus* 作用を持ち、宿主に使いやすい新規抗菌薬となりうる化合物として、鎖状テルペンアルコールは有用であることを明らかにした。

参考文献

- a) Pattnaik S., et al., *Microbios*, 89, 39-46 (1997)
- b) Inoue Y., Hamashima H. et al., *FEMS Microbiol. Letters*, 237, 325-331 (2004)
- c) Kaneko M., Togashi N., et al., *The Journal of Antibiotics*, 64, 547-549 (2011)
- d) Sikkema J., et al., *Microbiological Reviews*, 59, 201-222 (1995)

本研究の誌上発表

- 1) Togashi, N., Hamashima, H., et al., *Molecules*, 12, 139-148 (2007).
- 2) Togashi, N., Hamashima, H., et al., *J. Essent. Oil Res.*, 22, 263-269 (2010).
- 3) Togashi, N., et al., prepared.
- 4) Togashi, N., Hamashima, H., et al., *Molecules*, 13, 3069-3076 (2008).