

微生物に対するオーレオマイシンと テラマイシンの作用の比較

岡山大学医学部微生物学教室（指導・村上 栄教授）

矢 部 芳 郎
中 山 五 郎
林 生
橋 本 良 平
小 野 繁 忠

〔昭和33年5月27日受稿〕

緒 言

オーレオマイシン（下 AM）及びテラマイシン（以下 TM）が諸種抗生物質中最も広い抗菌域を有つこと、更に極めて耐性を生じ難いことは既に報告され¹⁾²⁾ 衆知の事実である。又 AM 及び TM が諸種抗生物質中呼吸阻害作用を示す唯一とも云えるものであること³⁾⁴⁾ 及び呼吸に共軛した酸化的磷酸化を阻害する作用をもつこと⁵⁾ が報告されており、更に又 AM の作用が金属イオン殊に Mg^{++} と強い関係を有つこと⁶⁻⁸⁾ も報告されている。そしてこれらの極めて特異的な諸性質乃至作用の為に、AM 或は TM は微生物学的研究のみならず一般の生理学的研究の極めて広い面に於て使用されている。そしてそれらの場合 AM 及び TM の作用はその両者に関して略同一であると考えられており、又多くの場合実験乃至観察はこれら二物質の中の何れか一つのものについてのみなされている。然し Hobby¹⁾ が述べている様に、これら二つの抗生物質がその安定性に於て、そして又化学構造に於て多少とも異なるという事実はこれらのものゝ作用機序に差異が存在するかもしれないという事を暗示するものである。

著者等は同じテトラサイクリン系の物質であり、その作用に就いても略同一視されているところの AM 及び TM の微生物の呼吸及び発育に対する作用を *in vitro* に於て比較検討し、両者の間の差異及びその作用機作に関し多少の知見を得た。以下これらについて記述する。

実験材料及び方法

使用菌：教室保存の大腸菌 *Escherichia coli* 及

びブドウ球菌 *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*（寺島）。

静止菌調製法 上記菌を普通寒天平板に 37°C、18時間培養後採取し、M/50 磷酸緩衝液（pH 7.0）で3回洗滌し、同一緩衝液に浮遊させた。菌量は島津光電比濁計を使用し比濁法により調製した。

オーレオマイシン（AM）・日本レダリー株式会社製造、武田薬品工業株式会社販売の結晶塩酸オーレオマイシン末（国家検定済）を使用し、分子量 $C_{22}H_{23}O_8N_2Cl \cdot HCl = 515.3$ として濃度の計算を行った。

テラマイシン・台糖ファイザー株式会社製造の結晶塩酸テラマイシン末（国家検定済）を使用し、分子量 $C_{22}H_{23}O_8N_2OH \cdot HCl = 496.9$ として濃度の計算を行った。尚 10⁻²M 塩酸テラマイシン水溶液は少時放置すると結晶を析出する為、調製後速かに実験に供した。

呼吸活性測定・ワールブルグ検圧計を使用し、常法に従つて行つた。尚抗生物質は始めから菌と一緒に主室に入れ、基質は側室に入れ、15分間空振りにより温度平衡を保つた上で、側室より基質を注加し測定を開始した。

培養実験：実験結果の項に記述。

尚菌の分類名は Bergey の *Manual of Determinative Bacteriology* 6, ed. (1948) に従つた。

実験結果

第1節 細菌の呼吸に対するオーレオマイシン及びテラマイシンの作用

前述の如く諸種抗生物質中 AM は細菌の呼吸に対して阻害作用を示す唯一ともいふべきものである

と報告されているが、これと同一系統に属する抗生物質であるところの TM の細菌の呼吸に対する作用を調べ、AM と比較検討した。表 1 に示した如く、*E. coli* に於てはグルコース、

表 1 *E. coli* の呼吸に対するオーレオマイシン及びテラマイシンの作用

基 質	抗生物質 及び濃度	自 己 呼 吸	対 照	オーレオマイシン (終濃度 M)				テラマイシン (終濃度 M)			
				10 ⁻³	3.3×10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3.3×10 ⁻⁵	10 ⁻³	3.3×10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3.3×10 ⁻⁵
グ ル コ ー ス	酸素消費量	13	150	13	13	25	124	9	38	141	149
	%		100.0	8.7	8.7	16.7	82.7	6.0	25.4	94.0	99.3
ビルヴィ ン 酸	酸素消費量	15	153	6	10	27	122	6	35	138	153
	%		100.0	3.9	6.5	17.7	79.8	3.9	22.9	90.2	100.0
アスパラ ギン 酸	酸素消費量	12	86	6	8	23	69	11	44	68	76
	%		100.0	7.0	9.3	26.8	80.2	12.8	51.2	79.1	88.4
グルタミ ン 酸	酸素消費量	10	70		5	18	54	6	34	57	61
	%		100.0		7.1	25.7	77.2	8.6	48.6	81.5	87.1

容器内容・主室一菌液 0.5ml (湿菌量 5 mg), M/5 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 1.0ml, 抗生物質水溶液 0.3ml, 側室—M/4 基質 0.3ml, 水を加えて全量を 3.0ml とす, 副室—20% KOH 0.2ml, 気相: 空気, 37.5°C, 60分, % 対照の酸素消費量 100.0 に対する抗生物質を添加したものの酸素消費量の割合 (自己呼吸に対する保正なし)

ビルヴィン酸, アスパラギン酸及びグルタミン酸の何れを基質とした場合に於ても AM は 10⁻³ 及び 3.3×10⁻⁴M, TM は 10⁻³M の濃度に於て夫々完全に呼吸を阻害した。又 AM は 3.3×10⁻⁵M の濃度に於て尚 10~20% の呼吸阻害を示したが, TM は 3.3×10⁻⁵M の濃度に於ては殆んど呼吸阻害作用を示さなかつた。そして AM の 10⁻⁴ 及び 3.3×10⁻⁵M は TM の 3.3×10⁻⁴ 及び 10⁻⁴M より夫々少々強

度の呼吸阻害作用を示した。即ち AM の呼吸阻害作用は TM に比して約 3 倍以上強力であると云える。

一方 *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) に於ては, これらの抗生物質の呼吸に対する態度は *E. coli* に対するよりも可成り異つた様相を呈した (表 2)。即ちグルタミン酸を基質とした場合には呼吸は可成り高く, それに対して 10⁻³~10⁻⁴ M の AM

表 2 *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸に対するオーレオマイシン及びテラマイシンの作用

基 質	抗生物質 及び濃度	自 己 呼 吸	対 照	オーレオマイシン (終濃度 M)				テラマイシン (終濃度 M)			
				10 ⁻³	3.3×10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3.3×10 ⁻⁵	10 ⁻³	3.3×10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3.3×10 ⁻⁵
グルタミ ン 酸	酸素消費量	2	50	6	11	19	55	14	27	57	56
	%		100.0	12.0	22.0	38.0	110.0	28.0	54.0	114.0	112.0
アラニン	酸素消費量	4	26	13	19	32	29	21	26	39	39
	%		100.0	50.0	73.1	123.0	111.5	80.8	100.0	150.0	150.0
グ ル コ ー ス	酸素消費量	11	26	32	30	24	21	63	40	28	27
	%		100.0	123.1	115.4	93.1	87.7	242.3	153.8	107.7	103.8
ビルヴィ ン 酸	酸素消費量	11	19	8	8	10	17	14	14	20	19
	%		100.0	42.1	42.1	52.6	89.5	73.7	73.7	105.2	100.0
乳 酸	酸素消費量	4	95	26				79			
	%		100.0	27.4				83.1			

容器内容, 実験条件等総べて表 1 のものと同様。

及び $10^{-3} \sim 3.3 \times 10^{-4}$ M の TM は強い呼吸阻害作用を示したが、 3.3×10^{-5} M AM 及び $10^{-4} \sim 3.3 \times 10^{-5}$ M TM はその呼吸を多少とも促進する傾向を示した。アラニンを経質とした場合にもグルタミン酸を経質とした場合と略々同様の傾向が認められたが、その阻害度はグルタミン酸を経質とした場合よりも低い様であった。グルコースを経質とした場合の *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸は余り高くないが、これに対する AM 及び TM、殊に TM の作用は極めて特異的であつた。即ちグルコースを経質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸はこれらの抗生物質の試みられた範囲内の如何なる濃度のものによつても認むべき阻害を受けず、

逆に高濃度のもの程呼吸を促進する傾向を示し、その促進作用は TM に於て特に著明であつた。然るにビルグイン酸を経質とした呼吸極めて低いが一は AM 及び TM により阻害される様であり、少くとも試みられた範囲内の濃度に於ては認むべき呼吸促進作用はみられなかつた。更に乳酸を経質とした呼吸も 10^{-3} M AM 及び TM の何れによつても阻害され、促進作用は認められなかつた。

第2節 細菌の発育に対するオーレオマイシン及びテラマイシンの作用

表3に示した如く AM 及び TM の何れに於てもその細菌発育完全阻止濃度は *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) に対しては略々 10^{-5} M, *E. coli* に

表 3 ブイオン中に於ける菌の発育に対するオーレオマイシン及びテラマイシンの作用

培養 菌	時間 (時間)	抗生物質 濃度	対照	オーレオマイシン (終濃度 M)						テラマイシン (終濃度 M)					
				10 ⁻⁷	3.3 ×10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3.3 ×10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3.3 ×10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	3.3 ×10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3.3 ×10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3.3 ×10 ⁻⁵
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. pyogenes</i> var. <i>aureus</i> (寺島)	22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ブイオン (pH7.2) 2.5ml, 抗生物質水溶液0.3ml, 菌浮游液 (湿菌量0.05mg/ml) 0.2ml, 37°C.

対して略々 3.3×10^{-5} M であり、*E. coli* の方が *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) に比しブイオン中でよりよく発育すると同時に、これらの抗生物質に対しては約3倍強い抵抗を示した。

又22時間培養についてみると、*M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) 及び *E. coli* の何れに対しても AM の方が TM よりも稍々強い発育阻止作用を示した。然し49時間後の細菌発育完全阻止濃度に関しては AM, TM とともに略同一であつた。又菌の呼吸が極く軽度にしにしか阻害されない濃度 (3.3×10^{-5} M 程度) に於て菌の発育は完全に阻止された。即ち発育は呼吸よりも遙かに ($1/10 \sim 1/100$ の濃度で) AM 又は TM により阻害され易い。

総括及び考按

AM 及び TM の抗菌作用機作に関しては従来種々報告されているが、未だ決定的なものは確定されていない。Loomis⁵⁾ は AM は呼吸と酸化的磷酸化との共転を阻害するといつており、又 Van Metter, Oleson⁹⁾ は AM の作用機作は Krebs 回路の或る部分を block することであると報告して居る。又 Hahn 等¹⁰⁾ は CM, AM, TM 等が *E. coli* に於

て適応酵素の形成を阻害する事を報告し、同時に、この適応酵素形成の阻害作用のみがこういつた抗生物質の抗菌作用であるのではなくて、恐らくこれは寧ろ微生物の蛋白代謝の一般的な干渉を意味するものであらうと推論している。一方 Miura 等¹¹⁾ も *Staphylococcus aureus* の実験に於て TM は酸溶性有機磷の特殊活性を阻害することを示し、この結果より TM も AM と同様磷酸化系に働くものと結論している。

こうして一般的には TM と AM とはその抗菌作用機作に関しては略同一であると結論づけられている。然し一方 Karp 等¹²⁾ がリッケットチヤの呼吸に対する AM 及び TM の作用に関して報告している如く、少くとも量的にはこれら両者の間に差が存在するのではないかと考えられる。

著者等の実験に於ては、*E. coli* 及び *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸に対する阻害作用に関して、濃度の点からいつて AM は TM の約3倍有効であることが判明した。そしてこの事実は *E. coli* に於てはグルコース、ビルグイン酸、アスパラギン酸及びグルタミン酸の何れを経質とした場合に於ても認められ、又 *M. pyogenes* var. *aureus*

(寺島)ではビルヴィン酸、乳酸、アラニン及びグルタミン酸の何れを基質とした場合に於ても認められた(但し *M. pyogenes* var. *aureus* の呼吸はグルタミン酸及び乳酸を基質とした場合の他は極めて低い)。

以上の事実より、少くとも呼吸阻害という事に関する限り AM の方が TM に比し極めて強力な作用を有する事がわかる。この事は AM が TM より遙かに強い金属イオン (Mg^{++} , Mn^{++}) との結合性をもつこと⁸⁾ と考え併せて興味ある点である。

一方発育阻止という点に関しても、*E. coli* 及び *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の何れに対しても AM の方が TM よりも稍々強い作用を有する様であつた(但し発育の完全阻止濃度に於ては余り著明な差は認められなかつた)。従つてこれらの薬剤に於ては、少くとも濃度の面からみて、呼吸阻害と発育阻止との間に或る程度の並行関係が存在する事が認められた。又同時に、呼吸阻害の殆んど若しくは全く起らない濃度に於てこれらの菌の発育は殆んど完全に阻止された。これらの事実より、直接的呼吸阻害自体がこれらの抗生物質の主要抗菌作用をなしているのではなくて、寧ろ呼吸と関連したこれらの微生物の発育に不可欠な(そしてそれは呼吸よりももつと阻害され易い)機構—先ず考えられるものは呼吸に共軌した酸化的磷酸化—に対する阻害作用がこれらの薬剤の抗菌作用の重要な部分を占めることが考えられる。

又 *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) に於てグルコースを基質とした場合、その呼吸は $10^{-3}M$ の AM によつても阻害されず、TM は逆に極めて強く呼吸を促進した。一方 Yabe¹³⁾ は *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) に於てグルコース或はビルヴィン酸又は乳酸を基質とした呼吸はグルタミン酸を添加する事により極めて著明に促進され、その終末呼吸乃至代謝系が極めて特異的な様相をもつことを報告している。従つてグルコースを基質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸に対する TM の著明な促進作用に関しては次のことが考えられる。第一に、TM 中にグルタミン酸或は Mg^{++} 等の呼吸に対し促進的に働く物質が混在している。第二に、*M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) はグルコース代謝に関して少くとも 2 つ以上の経路を有し、TM はその酸素消費の少い経路(強いて云えば嫌氣的経路)を強く阻害する為に、他の酸素消費の大なる経路—そしてそれは $10^{-3}M$ の TM にも阻害されない—が

強く表面に出て働いてくる。第三に、1つのグルコース代謝過程の中で遊離して来る水素を受容すべき他物質—それは恐らくグルコース代謝の結果生ずるものであろう—の生成過程を阻害するか、或はその物質と水素との結合を阻害する為に、水素は酸素と結合する様になる(而もその水素と酸素との結合系は $10^{-3}M$ の TM により阻害されない)。

然るにグルコースを基質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸は高濃度の TM により促進されたが、乳酸又はビルヴィン酸を基質としたものは寧ろ阻害された。従つて Yabe が報告した事実と考え併せる時、上記三者の中第一のものは先ず否定される。残る二つの中の何れが真の原因をなすものであるかという事は尚今後の詳細な研究に俟たねばならぬ処である。

然しグルコースを基質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸(正確には酸素消費と云うべであらう)が AM 又は TM により阻害されず、TM によつては逆に著明に促進され、一方 *E. coli* の呼吸は AM, TM の何れによつても極めて強く阻害されるという事実は、*E. coli* と *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) との間に、そのグルコース代謝過程に関して極めて大きな差異があることを明かに示すものと考えられる。

結 論

1. オーレオマイシン及びテラマイシンはグルコース、ビルヴィン酸、アスパラギン酸及びグルタミン酸を基質とした *E. coli* の呼吸を強く阻害する。この呼吸阻害作用に関しては、濃度の面からみて、オーレオマイシンの方がテラマイシンに比し約3倍強力である。

2. グルタミン酸、アラニン、ビルヴィン酸及び乳酸を基質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸は(ビルヴィン酸を基質とした呼吸は極めて低い) オーレオマイシン及びテラマイシンにより阻害される。その作用は濃度の面から云つて、オーレオマイシンの方がテラマイシンに比し約3倍強力である。

3. グルコースを基質とした *M. pyogenes* var. *aureus* (寺島) の呼吸(かなり低い)はオーレオマイシン及びテラマイシンにより阻害されず、寧ろ促進される。殊にテラマイシンは極めて強く促進する。

4. *E. coli* 及び *M. pyogenes* var. *aureus* (寺

島)に対する発育阻止作用に関しても、オーレオマイシンの方がテラマイシン比し稍々強力である。然し長時間(約49時間)観察の場合、両者とも略同程度である。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導を賜った恩師村上栄教授に深甚なる謝意を表し、併せて御協力下さった徳氷君に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Wyss, O., Smith, G. N., Hobby, G. L., Oginsky, E. L. and Pratt, R.: Bact. Rev., 17, 17, 1953.
- 2) 林: 未発表.
- 3) 秋田: 岡山医学会雑誌, 69, 549, 1957.
- 4) 矢部, 秋田, 秋田: 岡山医学会雑誌, 69, 2505, 1957.
- 5) Loomis, W. F.: Science, 111, 474, 1950.
- 6) 赤沢: 岡山医学会雑誌, 66, 1023, 1954.
- 7) 三浦: 第31回日本細菌学会特別講演要旨.
- 8) 矢部, 林, 中山, 大西: 岡山医学会雑誌, 印刷中.
- 9) Van Metter, J. C. and Oleson, J. S.: Science, 113, 273, 1951.
- 10) Hahn, F. E. and Wisseman, C. L. Jr.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 76, 533, 1951.
- 11) Miura, Y., Nakamura, Y., Matsudaira, H. and Komeiji, T.: Antibiotics and Chemotherapy, 2, 152, 1952.
- 12) Karp, A. and Snyder, J. C.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 79, 216, 1952.
- 13) Yabe, Y.: Japan. J. Microbiol., 1, 369, 1957.

A Comparative Study on the Action of Aureomycin and Terramycin

By

Yoshiro Yabe
Goro Nakayama
Sei Hayashi
Ryohei Hashimoto
Shigetada Ono

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Dr. Sakae Murakami)

Both of aureomycin and terramycin belong to the tetracycline, and their action has been considered to be nearly the same. The authors made a comparative study on the action of aureomycin and terramycin and obtained the following results:

1) The respiration of *Escherichia coli* in the presence of glucose, pyruvate, aspartate and glutamate is markedly inhibited by both of aureomycin and terramycin. The respiration inhibitory action of aureomycin is quantitatively about 3 times higher than that of terramycin.

2) The respiration of *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* (Terashima) in the presence of glutamate, alanine, pyruvate and lactate is inhibited by both of aureomycin and terramycin. As for the respiration inhibitory action, aureomycin is quantitatively about 3 times stronger than terramycin.

3) The respiration of *M. pyogenes* var. *sureus* (Terashima) in the presence of glucose is not inhibited by aureomycin or terramycin, but is rather accelerated by these, particularly by terramycin.

4) As for the growth inhibitory action, aureomycin is somewhat stronger than terramycin.
