



## 抗菌ペプチド ～生体防御から新しい治療へ～



京都大学大学院薬学研究科 教授  
松崎 勝巳

### 1. はじめに

わたしたちの体は、皮膚や気道などを通じて外界と接しており、つねに細菌、ウイルスなどの多くの微生物にさらされていますが、通常、これらにより病気になることはなく健康に過ごしています。これは、免疫の力によるものです。免疫には生まれながらにして持っている先天性（自然）免疫と、一度感染してから成立する後天性（獲得）免疫があります。いまだに終息をみせない新型コロナウイルスは、人類がこれまでに感染したことの無いウイルスであったため、後天性免疫（抗体）が働かず、多くの犠牲者を出しました。ワクチンは疑似感染により、新型コロナウイルスに対する抗体を作り出し、感染を防御するものです。しかし、抗体ができるには一定の期間がかかるため、すぐには間に合いません。これに対し、すでにそなわっている先天性免疫はすぐに病原微生物に対し立ち向かうことができます。抗菌性ペプチドは、この先天性免疫のひとつです。これまでに3,000種を超える抗菌性ペプチドがヒトを含む様々な動植物から発見されています。

### 2. 抗菌性ペプチドが効く仕組み

代表的な抗菌性ペプチドのアミノ酸配列を表1に示しました。これらはおよそ15～50残基からなっており、リシン（Lys）やアルギニン（Arg）が多く、生理的pHではプラスに帯電しています。同時に、ロイシン（Leu）、イソロイシン（Ieu）、バリン（Val）など疎水性のアミノ酸も適度に含まれており、分子全体として両親媒性（水にも油にも親和性がある）となっているのが特徴で、この陽イオン性・両親媒性という物理化学的性質が、効く仕組みにおおに関係しています。

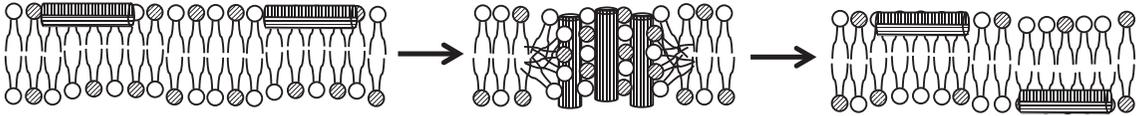
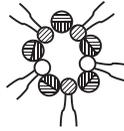
陽イオン性は細菌と宿主を見分けるのに役立っています。図1に細菌とヒト細胞の表面構造の違いを示します。細菌は石炭酸ゲンチアナ紫という色素に対する染色性（グラム染色法）からグラム陰性菌・グラム陽性菌に大別されます。どの細胞も脂質とタンパク質とでできた細胞膜で包まれています。グラム陰性菌では外膜というもう一枚の皮があります。外膜表面はリポ多糖という物質で覆われています。一方、グラム陽性菌ではペプチドグリカン層とよばれる厚い細胞壁が外膜の代わりにしています。リポ多糖にはリン酸基が、ペプチドグリカンにはタイコ酸がたくさんあり、マイナス電荷を与えています。すなわち、細菌の表面は強くマイナスに帯電しており、プラスに帯電した抗菌性ペプチドが結合しやすくなっています。さらに作用点である細胞膜自体もホスファチジルグリセロールやカルジオリピンといったマイナス電荷をもつ脂質がたくさんありマイナスに帯電しています。

一方、ヒト正常細胞の場合、細胞膜表面のタンパク質や脂質に結合した糖鎖に少しマイナス電荷はあるものの、ほとんどのマイナス電荷をもった構成成分は細胞内に面した膜の裏側に隠れており、抗菌性ペプチドの結合を防いでいます。興味深いことに、がん細胞では表面のマイナス電荷が増大していますので、抗菌性ペプチドはがん細胞選択的に作用できる可能性をもっています。また、ヒト細胞には、膜の強度を高めるコレステロールが含まれており、これも抗菌性ペプチドの攻撃から膜を守っています。

細菌を電氣的に見分けた抗菌性ペプチドは、その両親媒性という性質を使い、膜に孔を開けて殺菌効果を発揮します。図2に我々が世界に先駆けて解明した孔を開ける仕組みを示します。これは、脊椎動物からはじめて発見された抗菌性ペプチドのひとつである



上から見た図



膜表面への結合

toroidal ポア形成

膜透過

図2 抗菌性ペプチドが膜に孔を開ける仕組み

いますので、ヘリックスはまわりの脂質を結合したまま膜に挿入します。その結果、toroidal ポアとよばれる鼓型の孔を開けます（図2中）。このとき、ヘリックスや脂質の親水性部分は水で満たされる孔の内側を向いており、ここを通過してイオンや分子量数百程度の低分子物質が細菌細胞から漏れ出し、菌を殺します。この孔の存在により、外側と内側の脂質がつながり、熱運動により自由に入り交じってしまいます。このことも細菌を死に追いやる一因となっています。さらに、この孔が壊れる際、ペプチドの一部は内側にも移動する結果、ペプチドが膜を透過し、細胞内に侵入します（図2右）。

アフリカツメガエルはオタマジャクシからカエルになるときにだけ、magainin 2のほかにPGLa（表1）を産生します。両者を1:1で混合すると、それぞれを単独で用いるときに比べ、1/8の量で抗菌作用を示します。これは、両ペプチドが強い活性を持つ1:1の複合体を作るためです。このとき、 $\alpha$ ヘリックスのN末端同士、C末端同士が横に並ぶ形で相互作用します。この複合体は抗菌作用だけでなく細胞毒性も強いいため、残念ながら薬としてつかうことはできません。

buforin 2（表1）は、膜に孔を開けることなく細胞内に侵入し、核酸に結合してタンパク質合成を止めることにより殺菌効果を発揮します。この侵入メカニズムは長らく謎だったのですが、われわれはmagainin 2と同じであることを突き止めました。buforin 2は+6という大きな正電荷を持つため、ポア内部の静電反発が大きく、ポアはすぐに壊れてしまいます。したがって、細胞内の物質が漏れる間がないのです。ペプチドの侵入はポアが壊れたときのみ起こりますので、

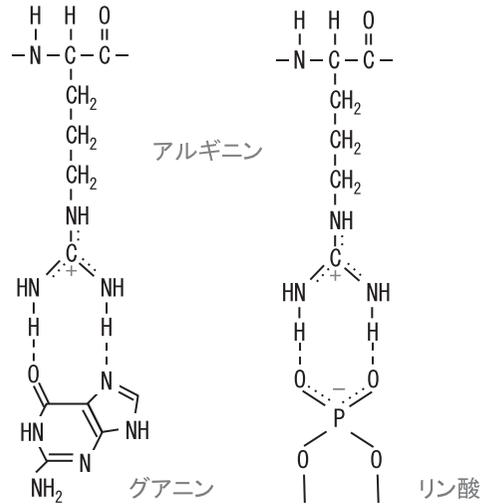


図3 アルギニンフォーク

次々にポアができては壊れると侵入の効率が大きくなります。buforin 2はArgを多く含んでいます。Argは核酸を構成する塩基やリン酸基と複数の水素結合により強く結合できるため（アルギニンフォークとよばれる、図3）、buforin 2は核酸に強く結合することになります。

$\alpha$ ヘリックスのほかに、 $\beta$ シート構造を形成する抗菌性ペプチドもあります。興味深いことに、2本のジスルフィド結合により環状の両親媒性の $\beta$ シート構造をもつtachyplesin I（表1）もtoroidal ポアを形成し、細胞内物質を漏らせるだけでなく、Argの存在によって核酸とも相互作用できます。

ヒト由来のHD-5も $\beta$ シート構造をもちますが、3本のジスルフィド結合により折りたたまれた構造をと

ります。やはり膜に孔を開けるとされていますが、その詳細なメカニズムは分かっていません。最近、北海道大学の綾部教授のグループは、小腸上皮のパネト細胞の過剰な小胞体ストレスで生じる  $\alpha$ -defensin-5 の誤った折りたたみ（還元型  $\alpha$ -defensin-5）が腸内細菌叢の破綻を誘発し、クローン病の発症に繋がる可能性を示しました。このように、抗菌性ペプチドの異常は、病気にも関係しています。

### 3. 抗菌性ペプチドから薬へ

magainin 2 を発見した Michael Zasloff 博士は、Magainin Pharmaceuticals というベンチャー企業を立ち上げました。感染性糖尿病性下肢潰瘍のための塗り薬として、magainin 誘導体である MSI-78 を開発し、1998 年に米国食品医薬品局（FDA）に申請しましたが、臨床試験方法に問題があり、承認されませんでした。これを境に、ピークを迎えていた抗菌性ペプチドの臨床応用研究がいったん下火になりました。しかし、既存の薬剤が効かない多剤耐性菌が大きな問題となってきたにもかかわらず、新規抗生物質の認可数は減少している状況を鑑み、2010 年代には、欧米で、新薬認可のハードルを下げる、特許独占権を延長するなど、新規抗生物質の開発を促進する方針が発表されました。これを契機として、抗菌性ペプチドを薬にする動きが再び活性化してきました。

抗菌性ペプチドを実用化するにはいくつかのハードルがあります。まず、製造コストの問題です。ペプチドの化学合成は大変高価です。タンパク質やペプチドを安価につくるには、遺伝子組み換えによって大腸菌に作らせる方法が一般的ですが、抗菌性ペプチドの場合、目的物の産生によって菌が死なないように工夫する必要があります。そのほか、遺伝子をタバコの葉に導入して栽培し、収穫した葉から目的物を精製する方法や、牛に遺伝子を導入してミルクから単離する方法などが考案されています。

抗生物質は塗り薬、飲み薬、注射薬といった使い方をしますが、抗菌性ペプチドを経口投与した場合、消化管内での分解や消化管からの吸収率の悪さという問題が、また、静脈内投与した場合には、血中での分解や高濃度での毒性の問題があります。これらを解決するために様々な化学的手法（環状化、脂質や高分子修飾、D アミノ酸の利用など）が試みられていますが、

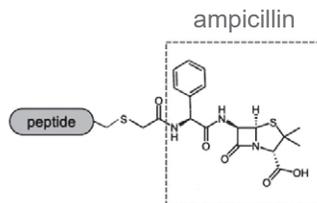
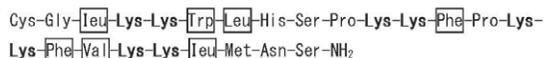


図4 ampicillin と抗菌性ペプチドの結合物

満足できる方法は確立されていません。そのため、塗り薬としての開発が中心となっているのが現状です。

最近、我々は、抗菌性ペプチドと抗生物質を化学的に結合した化合物を創製しました。抗生物質 ampicillin は外膜（図1）を通りにくいため、グラム陰性菌である *Acinetobacter baumannii* にあまり効きません（最小発育阻止濃度  $320\mu\text{M}$ ）。当研究室で開発した magainin 2 誘導体の N 末端に Cys を導入したペプチド（図4上、最小発育阻止濃度  $10\mu\text{M}$ ）と ampicillin を、外膜透過後に切断されるジスルフィド結合で結合した化合物を合成したところ、わずか  $2.5\mu\text{M}$  の低濃度で菌の増殖を阻止しました。これは、膜透過性のあるペプチドとの連結によって ampicillin が外膜を透過できたためであると考えられます。このように、外膜透過性が悪いためドロップアウトしていた抗生物質候補化合物を、抗菌性ペプチドと結合させることにより、復活させることができます。

### 4. おわりに

以上、抗菌性ペプチドの構造、作用機序、臨床応用へ可能性について概説しました。最近の研究によれば、抗菌性ペプチドには抗菌作用のほか、免疫調節作用や創傷治癒作用もあることが明らかとなってきています。抗菌性ペプチドは、多種の細菌に効果があり、耐性菌を生じにくいことから、欧米では多くのベンチャー企業が立ち上がり、2021年の時点で30以上の企業が抗菌性ペプチドの臨床試験を行っています。筆者は高校生とき、化学と医学に興味があり、薬学部へ進学しました。大学教員となってからも創薬を意識した研究に取り組んできました。抗菌性ペプチドの発見当時から研究に携わってきた者として、一日も早く抗菌性ペプチドが医薬品となることを願っています。