

カエルに学ぶ抗菌力

茂里 康

両生類の代表格であるカエルは乾燥に弱いので、水辺などの湿った環境が生息の中心である。産卵場所は多様であるが、幼生のオタマジャクシはえら呼吸を行い、水中で生活している。成体になると肺呼吸を開始し、陸上の生活が可能となり、陸上・水中を行き来しながら生活している。このように陸上および水中の両方の環境が生息に必要なが、カエルツボカビ病をはじめとする感染症などにより、近年生息数は激減している。

一方、生体適応・防御・発生・内分泌系の観点から、カエルは絶好の研究材料として用いられてきた。陸上・水中の異なる生活環境を行き来することから、多様な微生物などの攻撃に曝されやすいと考えられる。そのため自らの身を守るための、何らかの特別な機構を保持していると考えられてきた¹⁾。

カエルは特に皮膚の分泌腺や毒腺が多いことから、これまで抗菌ペプチドなどの機能性分子が、皮膚から単離されてきた。これらの機能性分子は、皮膚組織の破碎、抽出、バイオアッセイ、精製を繰り返し、単離、同定、遺伝子配列解読などが行われてきた。代表的なカエル皮膚由来の抗菌ペプチドとして、アフリカツメガエルの皮膚から単離された、23アミノ酸残基のmagainin 1およびmagainin 2があげられる²⁾。アマガエルの一種の皮膚から発見された、30アミノ酸前後のアミノ酸数から構成されるdermaseptinファミリーペプチドも、代表的なカエル皮膚由来の抗菌ペプチドである³⁾。またアカガエル属 (*Rana* 属) は、カエルの中でも世界中に分布し、日本に生息しているものとして、ニホンアカガエル、トノサマガエル、ダルマガエル、ツチガエル、タゴガエル、ウシガエル (外来種) などが有名である。これらアカガエル属からも、brevinin, ranalexin, ranateurin など、多数の抗菌ペプチドが単離されている。

抗菌と言うと、トイレ・台所・お風呂製品に代表される抗菌加工製品と、抗生物質などの抗菌薬がまず想像されるであろう。前者の抗菌加工製品は、有機系の抗菌剤 (イミダゾール系・フェノール系・ピリジン系などの合成系、キチン・キトサン・カテキン・ヒノキオールなどの天然系) や、無機系の抗菌剤 (銀、ゼオライト、酸化チタン、銅など) を、製品に練り込んだり、コーティングしたりして、抗菌作用を発揮・持続する。後者の抗生物質は、細菌が増殖するために必要な代謝経路に作用することにより、選択的に細菌にのみ毒性を示す化合物である。その代表的な化合物として、細菌の細胞壁合成阻害作用を有するペニシリンに代表されるベータラクタム系や、タンパク質の合成阻害作用を有する、マクロライド系の抗生物質などがあげられる。

さて、カエル皮膚から単離された抗菌ペプチドは、いったいどのような作用機構で抗菌作用を発揮するのであるのか？ 一般的にカエルから単離された抗菌ペプチドは、正電荷を持つアミノ酸の一種であるリシン、非極性で疎水性のアミノ酸であるロイシンやイソロイシンを多く含んでいることが知られている⁴⁾。また細菌の細胞膜上にはリン脂質が多量に存在し、その親水性部が負電荷を帯びていることから、正電荷を有している抗菌ペプチドと、静電的相互作用によりまず結合すると考えられている。円二色性分散計 (circular dichroism, CD) や、核磁気共鳴 (NMR) を用いた高次構造解析の結果、一般的にカエル皮膚由来の抗菌ペプチドは、通常の溶液中では、安定な二次構造を形成していないことが判明している。しかし magainin などの抗菌ペプチドは、細胞膜を形成するリン脂質の小胞中や、細胞膜中の環境を模倣した溶液中 (たとえば50%トリフルオロエタノール溶液中) では、両親媒性のアルファヘリックス構造を形成することが知られている。つまり magainin などの抗菌ペプチドは、細菌の細胞膜上でリン脂質と静電的に結合後、両親媒性のアルファヘリックスという安定な二次構造を形成して細胞膜を貫通し、細菌にある種の虫食い穴 (ポア) を形成する。その結果、細菌の細胞膜は穴だらけとなり、細胞内成分の流出、細胞機能の破綻が引き起こされ、細菌が死滅すると考えられている。またカエルの抗菌ペプチドは、病原性細菌や真菌類に対し、広い抗菌スペクトルを有していることが一般的に知られている。抗菌ペプチドによる微生物の排除は、自然免疫に相当するものの一つとして考えられるので、広い抗菌スペクトルを有している事は生存には有利である。

このようなカエルの抗菌ペプチドは、前述したように抽出・精製・アッセイなどの複雑なステップを経て発見されてきた。つまり同定の過程で見過ごされた物や、不安定な物質は検出されていないことが推察される。一方1990年代以降に、新たな分析ツールとしてMALDI-MS, ESI-MSなどの質量分析法が飛躍的進歩を示した。この質量分析法を駆使することにより、従来の複雑な過程を経ずに、直接カエルの抗菌ペプチドを単離・同定する試みも報告されている⁵⁾。

- 1) 岩室祥一：比較内分泌学, **35**, 71 (2009).
- 2) Zasloff, M.: *Nature*, **415**, 389 (2002).
- 3) Amiche, M. et al.: *FEBS Lett.*, **456**, 352 (1999).
- 4) Conlon, M.: *Cell Tissue Res.*, **343**, 201 (2011).
- 5) Shigeri, Y. et al.: *FEBS J.*, DOI: 10.1111/febs.13107 (2014).