

アビエチン酸系抗菌・
抗バイオフィーム剤の開発研究開発本部 フォレストケミカル開発部 TFグループ
柳生 義貴

Yagyu Yoshitaka



1 はじめに

近年、新型コロナウイルス(COVID-19)が我々の生活に大きな影響をもたらした中、「抗菌」や「抗ウイルス」といった要求が高まり、世間の感染症対策への関心が高まっている。また、抗菌薬や抗ウイルス薬など病原体に効果を示す薬剤が開発されているが、新しい病原体も次々に出現しており、感染症対策は常に取り組むべき課題として認識されている。

当社は、松から得られる天然樹脂「ロジン」の化学技術を起点とするロジンケミカル技術を駆使して、粘着剤や製紙用薬品などを開発・提供してきた。近年は当社が蓄積してきたロジンに関する知見を活用し、ライフサイエンス分野での貢献を目指している。就実大学薬学部の山田准教授らのグループは、アビエチン酸系化合物の抗菌性・抗バイオフィーム性に注目していることから、当社は山田准教授らのグループとの共同研究を行い、天然由来物質としては極めて高い抗菌・抗バイオフィーム性を持つアビエチン酸系化合物を複数見出した。当社は、共同研究を通じて得られた知見に基づき、アビエチン酸系抗菌・抗バイオフィーム剤「RB-101、RB-102、RB-103」(以下、RBシリーズという)を開発した。本稿ではRBシリーズの抗菌性、ならびに抗バイオフィーム性を紹介する。図1にアビエチン酸系抗菌・抗バイオフィーム剤の外観、表1に性状を示す。



図1 RBシリーズの外観

品名	RB-101, RB-102, RB-103
外観/形状	無色～淡黄色/塊～粗粉砕
水への溶解性	ほとんどなし
効果	抗菌性・抗バイオフィーム性

表1 RBシリーズの性状

2 アビエチン酸とは

アビエチン酸は松から採取される「ロジン」の主成分で、アビエチン酸誘導体は食品や医薬品、化粧品用途で長年利用実績のある天然由来物質である。また、アビエチン酸誘導体による胃潰瘍抑制効果、血小板凝集抑制作用、抗炎症作用、抗潰瘍作用、抗癌作用などが報告されており^{*}、ライフサイエンス分野に広く応用可能な化合物として知られている。就実大学薬学部では、アビエチン酸系化合物が特定の細菌に対して殺菌作用を示すだけでなく、抗バイオフィーム性を有することを見出しており、アビエチン酸系化合物は細菌感染症の予防に期待できる物質である。

^{*}引用文献: Miguel A. Gonzalez, *Nat. Prod. Rep.* 2015, 32, 684-704.

3 抗菌性について

3-1 開発品RBシリーズの抗菌性

表2にRBシリーズの抗菌性の指標となるMIC(最小発育阻止濃度)測定結果を示す。MICとは細菌の発育を阻止する最小濃度であり、値が小さいほど高い抗菌力を示す。このRBシリーズは当社と就実大学との共同研究で得られた知見をベースに、商業的に提供可能な設計を行った開発品である。試験を行った細菌は皮膚表面に存在する黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腸内に存在するフェカリス菌、フェシウム菌、口腔内に存在するミュータンス菌、ソブリヌス菌で、感染症の原因菌となり得る細菌である。測定結果より、RBシリーズのMICは大腸菌以外の細菌に対して8～256 µg/mLであった。MICの値が小さいほど抗菌性が高いといえ、一般的な天然由来物質と比較してRBシリーズの抗菌性は高いことが確認できた。

菌名	MIC (µg/mL)		
	RB-101	RB-102	RB-103
黄色ブドウ球菌 N315	64	16	16
表皮ブドウ球菌 ATCC35984	32	256	256
フェカリス菌 ATCC51299	128	32	32
フェシウム菌 FN-1	128	32	32
ミュータンス菌 8148	32	16	16
ソブリヌス菌 100-4	32	16	8
大腸菌 NBRC3972	≧512	≧512	≧512

^{*}微量液体希釈法。試薬、生菌を加えた培地で37℃、24時間静置培養後の菌の育成を確認。

表2 RBシリーズのMIC

3_2 抗菌性の作用機序

アビエチン酸系化合物の細菌に対する抗菌性発現の作用機序を確認するために、**図2**に示すように、カリウムイオン(K⁺)を含有する脂質二重膜を作成し、薬剤添加による膜破壊に伴うK⁺の流出を測定した。使用したアビエチン酸系化合物は、デヒドロアビエチン酸(DAA)、アビエチン酸(AA)、ジヒドロアビエチン酸(DHAA)、テトラヒドロアビエチン酸(THAA)で、結果を**図3**に示す。各化合物の添加濃度とK⁺の流出割合から、膜への攻撃性はTHAA≒DHAA>AA>DAAとなったが、この結果は、**表3**で示す細菌への抗菌性試験のMICの結果とほぼ一致した。このことから、細菌の脂質二重膜に対する損傷作用が、アビエチン酸系化合物の抗菌性の作用機序であると考えられる。膜損傷性の推定作用機序を**図4**に示す。アビエチン酸系化合物は親水基(カルボキシル基)と疎水基(脂環式構造)を有しており、親水性の細菌表面にカルボキシル基

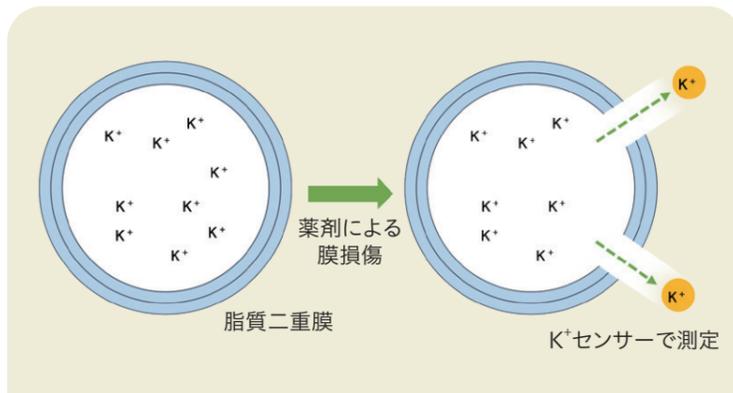
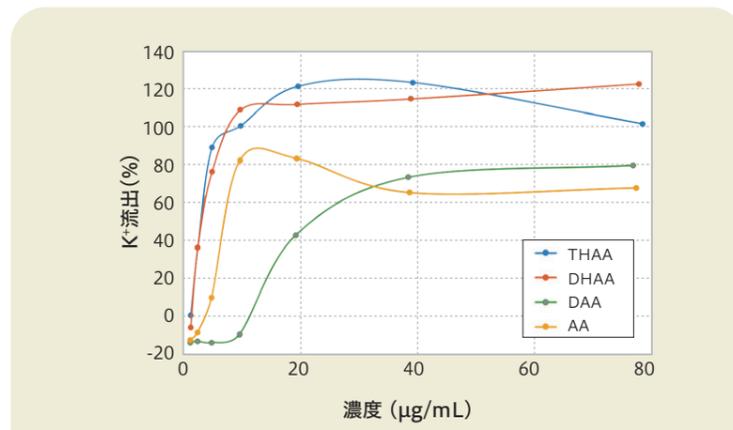


図2 人工細胞膜を使用した膜破壊性の検討



※ハチ毒に含まれる抗菌性ペプチド「メリチン」の膜損傷効果を100%とした。

図3 アビエチン酸系化合物の人工膜に対する攻撃性

が引き付けられた後、疎水基が脂質二重膜内部に入り込み膜構造を乱すことで、膜を破壊すると推測される。アビエチン酸系化合物は直鎖状の脂肪酸にはない脂環式のかさ高い構造を有しており、これが効率的に膜構造のずれを生じさせ、膜破壊を行っていると考えている。

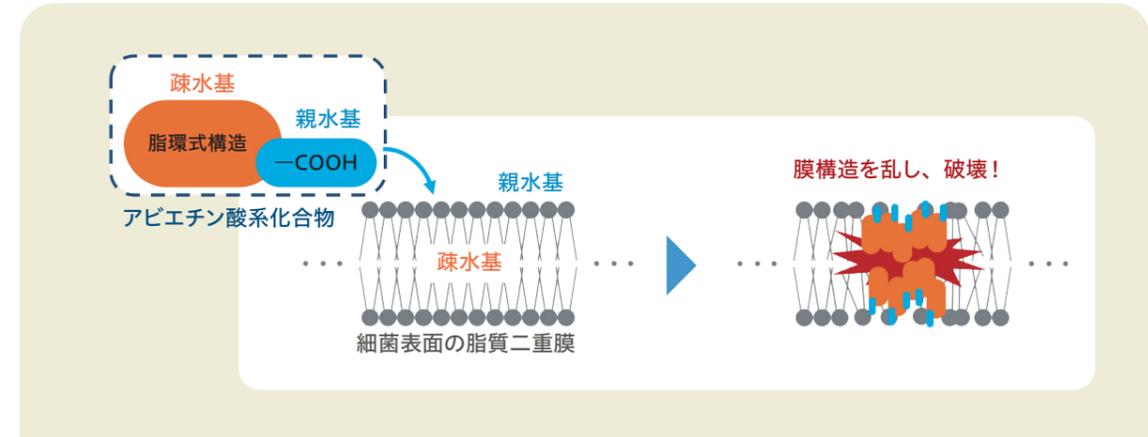


図4 膜損傷性の推定作用機序

4 抗バイオフィルム性について

抗菌剤は細菌を死滅させる強力な効果を持つ反面、薬剤耐性菌の出現をもたらすというリスクもある。薬剤耐性菌が増殖すると、既存の抗菌剤では治療効果が得にくくなり、感染防止や治療が困難となるケースが生じるため、近年では薬剤耐性菌への対策が急務となっている。そこで、薬剤耐性菌を増やさない方法の一つとしてバイオフィルム形成阻害が注目されている。バイオフィルムとは細菌が産生、または分泌する細胞外重合成分によって覆われた細菌の膜状集合体で、身近な例では歯垢や風呂場のヌメリなどがある。バイオフィルムは①細菌を物質表面に強固に付着させる②抗菌剤や免疫細胞から細菌自身を守る③細菌の増殖に必要な栄養素は取り込めるなどの特徴を有し、菌の増殖を助けるものである。このバイオフィルム形成を阻害できれば、細菌の増殖を抑制することが可能になる。また、殺菌ではない点から、薬剤耐性菌の出現防止も期待される。2023年7月にはISO 4768として抗バイオフィルム試験方法が規定され、さらに注目度が上がってきている。

4_1 開発品RBシリーズの抗バイオフィルム性

図5に、RBシリーズの抗バイオフィルム性を示す。細菌が生育可能な開発品濃度(MICの1/8の濃度)で、黄色ブドウ球菌とミュータンス菌に対する抗バイオフィルム性を確認した。抗バイオフィルム性はクリスタルバイオレット染色(CV)法*により評価した。他の細菌への抗バイオフィルム性は現在確認中である。このRBシリーズは低感染性医療用カテーテルの製造や、口腔内の歯垢付着防止などのさまざまな分野への応用が期待される。

*クリスタルバイオレット(CV)染色法 試薬、生菌を加えた培地で37°C、24時間静置培養後、CVを加え、吸光度を確認。抗バイオフィルム剤無添加を100%とした際のバイオフィルム(BF)形成率[%]を記載。

化合物名	MIC (µg/mL)
THAA	4
DHAA	4
AA	16
DAA	32

表3 黄色ブドウ球菌に対するアビエチン酸系化合物MIC

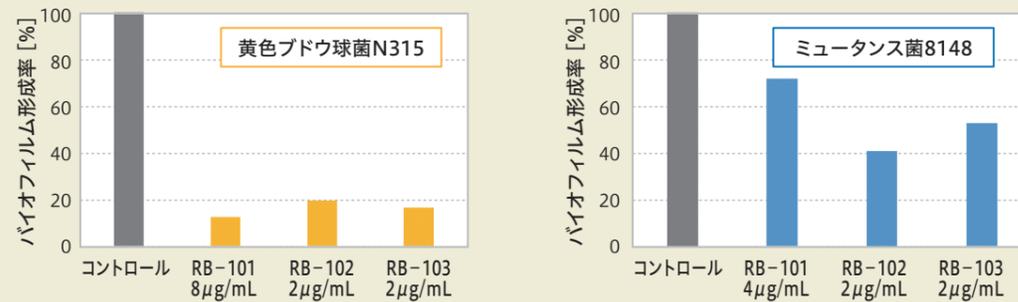


図5 RBシリーズの抗バイオフィルム性

4.2 プラスチックへの添加効果

開発品RBシリーズの特徴の一つとして、「広い相溶性」、「耐熱性」、「熱可塑性」があり、プラスチックに添加することが容易である。図6にポリプロピレンに添加した際の抗バイオフィルム性を示した(CV染色法により評価した)。5%添加で黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成を70%程度抑制でき、感染症予防効果をもつ新規の機能性プラスチックを開発できた。開発品RBシリーズは水にほとんど溶けないため、水の接触では簡単には除去されず、持続的な効果発現が期待できると考えられ、今後検証を行う。

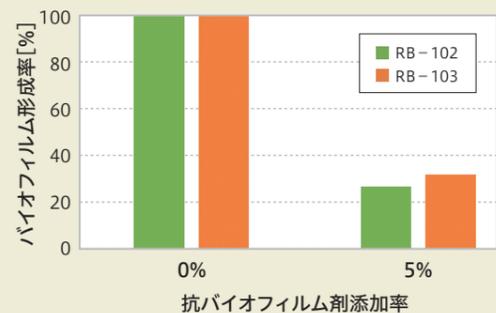


図6 プラスチックに添加した際の抗バイオフィルム性(対黄色ブドウ球菌N315)

5 おわりに

本報ではアビエチン酸系抗菌・抗バイオフィルム剤として開発品「RB-101、RB-102、RB-103」を紹介した。本開発品は水にほとんど溶けないが、アルコールなどには可溶で、プラスチックに練り込むこともできる。水溶性を制御することも可能で、日用品やオーラルケア用品、衛生用品や家電など幅広い用途への使用が期待される。また、抗菌性と抗バイオフィルム性が高く、天然物質由来で環境負荷が低いことから、展示会や学会発表で多くの反響を得ている。当社はバイオマス素材「ロジン」のトップメーカーとして、ライフサイエンス分野での製品開発にも精力的に取り組み、豊かな社会の実現に貢献していく所存である。