



平成30年 5月15日
国立大学法人帯広畜産大学

金属ナノ粒子のアミノ酸被膜による抗原虫効果の増大

1. 発表者：

Oluyomi Stephen Adeyemi (日本学術振興会 外国人特別研究員 (帯広畜産大学 原虫病研究センター)、ランドマーク大学 (ナイジェリア) 講師)
加藤健太郎 (帯広畜産大学 原虫病研究センター 准教授)

2. 発表のポイント：

- ◆アミノ酸の1つであるトリプトファンで被膜した金属ナノ粒子 (金ナノ粒子、銀ナノ粒子) の抗原虫効果は、被膜していない金属ナノ粒子の効果と比較して、高くなることが明らかになりました。
- ◆トリプトファン被膜金属ナノ粒子の抗原虫作用には、酸化ストレスやトリプトファン代謝経路が関わっていることがわかりました。

3. 発表概要：

トキソプラズマ症 (注1) は、トキソプラズマ原虫 (*Toxoplasma gondii*) の経口摂取により引き起こされ、妊婦の感染により流産や胎児の脳症などの先天性感染症を、エイズ患者などには重篤な症状をもたらすことがある人獣共通の感染症です。現状のトキソプラズマ治療のための薬剤は限られており、薬価の高騰もあり、代替薬が求められています。

これまでに帯広畜産大学原虫病研究センターの加藤健太郎らの研究グループは、金属ナノ粒子 (注2) が特異的にトキソプラズマの増殖阻止に働くことを明らかにしてきました。今回、金属ナノ粒子の表面にアミノ酸を被膜することで、トキソプラズマへの増殖阻止作用が増大することを明らかにしました。アミノ酸被膜金属ナノ粒子の抗原虫作用には、酸化ストレスや低酸素誘導因子の調節によるキヌレニン経路 (注3) の活性化等のトリプトファン代謝経路が関わっていることがわかりました。

本成果は、金属ナノ粒子を基にした新規の抗トキソプラズマ薬としての可能性だけでなく、抗原虫作用の分子メカニズムの解明に向けた新たな知見を提供するものです。

4. 発表内容：

①研究背景

トキソプラズマは、トキソプラズマ症の病原原虫であり、マラリア原虫等と同じくアピコンプレックス門に属する原虫 (注4) です。全世界人口の約3割が潜伏感染状態と推定され、世界で広く分布していますが、現状のトキソプラズマ治療のための薬剤は限られていることから、代替薬が求められています。

一方で、ナノテクノロジーの発展により同技術の医療への利用の可能性が期待され、様々な疾患に対する将来的な治療方法の1つとして研究が進められています。粒子の大きさ、その他の特性を変化させることで医学応用が図られ、特に活性酸素種の生成を促進することで感染性微生物の殺傷に効果がある可能性があります。最近、我々の研究グループでは、金属ナノ粒子の新規の抗トキソプラズマ作用について証明を行いました。トキソプラズマにはトリプトファン要求性があることから、金属ナ

ノ粒子の表面への被膜物としてトリプトファンは好適なアミノ酸の1つと予想されます。従って、本研究はトキソプラズマの栄養要求に対する解析としても新しい知見をもたらすものであると考えられます。

②研究内容

まず、金属ナノ粒子（金ナノ粒子、銀ナノ粒子）にアミノ酸（トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン、アルギニン）を被膜したものを作製し、表面プラズモン共鳴法及び走査型電子顕微鏡によって、被膜の確認を行いました。各々のアミノ酸被膜金属ナノ粒子がどれだけ特異的に抗原虫効果を発揮するかを抗トキソプラズマ効果と宿主細胞への毒性を比較することで解析した結果、トリプトファン被膜金属ナノ粒子の抗原虫効果は、アミノ酸被膜の無い金属ナノ粒子のものと比較して、飛躍的に高くなることがわかりました（金ナノ粒子：3倍以上、銀ナノ粒子：6倍以上）。一方で、解析に用いたトリプトファン以外のアミノ酸で被膜した金属ナノ粒子については、抗原虫効果は減弱しました。

次に、このトリプトファン被膜金属ナノ粒子について、トキソプラズマの宿主細胞への侵入や増殖への影響を解析しました。その結果、トリプトファン被膜金属ナノ粒子の存在下で宿主細胞侵入が抑制されました。また、トリプトファン被膜金属ナノ粒子の存在下、非存在下で1つの寄生体胞の中の原虫細胞の分裂個数を計測した結果、被膜金属ナノ粒子の存在下での培養時間に依存して原虫の細胞分裂の遅れが観察されました。

そこで、トリプトファン被膜金属ナノ粒子はどのようなメカニズムで原虫の増殖を抑制しているのか解析を行いました。まず、活性酸素種が関与しているか解析を行いました。抗酸化剤である Trolox の存在下で被膜金属ナノ粒子の抗原虫効果が減弱しました。この結果から、この抗原虫効果には酸化ストレスが関わっていることがわかりました。被膜金属ナノ粒子の存在下で活性酸素種の産生を測定したところ、産生が増加することが明らかになりました。次に、被膜金属ナノ粒子の存在下での原虫内ミトコンドリアの膜電位の影響について、解析を行いました。その結果、原虫内ミトコンドリアの膜電位は低下することが明らかとなりました。

最後に、トリプトファン被膜金属ナノ粒子がトリプトファンの代謝経路に与える影響を解析しました。トリプトファンの過剰投与によって、被膜金属ナノ粒子の抗原虫効果が競合阻害されることがわかりました。そこで、トリプトファンの代表的な代謝経路であるキヌレニン経路への影響を解析しました。キヌレニン経路では、トリプトファンはインドールアミン酸素添加酵素（IDO）により L-キヌレニンを経てキヌレン酸へ至ります。IDO 阻害薬の存在下で、被膜金属ナノ粒子の抗原虫効果が減弱しました。また、低酸素誘導因子の存在下でも、抗原虫効果が減弱しました。これらの結果から、トリプトファン被膜金属ナノ粒子は、宿主細胞の低酸素誘導因子を調節することで IDO を活性化すると考えられます。

③考察

今回得られたデータから、トリプトファン被膜金属ナノ粒子（金ナノ粒子、銀ナノ粒子）は、被膜の無い金属ナノ粒子と比較して、原虫増殖阻害により高い効果を持つことが明らかとなりました。この抗原虫効果は、酸化ストレスやトリプトファン代謝経路に関係していることがわかりました。これらの研究成果は、原虫の栄養要求性に注目することで、新しく効果的な抗原虫薬を開発することが有効であることを示しています。さらに、動物モデルを含めた解析を進めることで、トキソプラズマに効果的な治療につながることを期待されます。

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金 特別研究員奨励費、新学術領域研究（領域番号 3407）、基盤研究（B）、科学技術振興機構 テニューアトラック普及・定着事業、研究成果最適展開支援プログラム A-STEP、文部科学省 ナノテクノロジープラットフォーム事業、伊藤記念財団の支援を受けて行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Journal of Biomedical Nanotechnology 14, 847-867.

論文タイトル：Exploring amino acid-capped nanoparticles for selective anti-parasitic action and improved host biocompatibility.

著者：Oluyomi Stephen Adeyemi, Yuho Murata, Tatsuki Sugi, Yongmei Han and Kentaro Kato.

6. 問い合わせ先：

帯広畜産大学 原虫病研究センター 地球規模感染症学分野 准教授

加藤健太郎

Tel：0155-49-5645

Fax：0155-49-5646

E-mail：kkato@obihiro.ac.jp

研究室 URL：<http://www.obihiro.ac.jp/~globalinfection/index.html>

7. 用語解説：

(注1) トキソプラズマ症

ネコの糞便中や感染動物の食肉に含まれるトキソプラズマ原虫の経口摂取によって引き起こされる人獣共通感染症です。健常者が感染した場合は重篤になることはありませんが、妊娠の数ヶ月前あるいは妊娠中に初感染した場合、流産や胎児の脳症などの先天性感染症を引き起こします。さらに、エイズ患者や免疫抑制剤の投与を受けている患者では重篤あるいは致死的な症状をもたらすことがあります。

(注2) 金属ナノ粒子

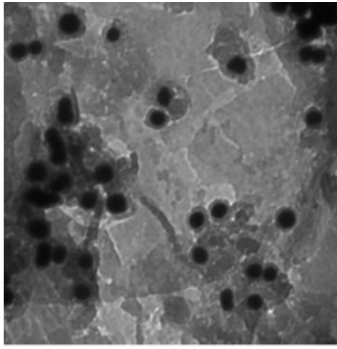
一般的な大きさの金属（バルク）とは異なる物理的、化学的特性を持っています。つまり、金属ナノ粒子は溶融温度・焼成温度の大幅な低下、蛍光発光、触媒の高効率化・新規反応などの特性が、バルクとは異なります。また、比表面積が極めて大きいことが知られています。量子サイズによって特有の物性を示します。

(注3) キヌレニン経路

アミノ酸の一種であるトリプトファンの代謝経路のひとつ。人体では摂取されたトリプトファンの大部分がキヌレニン経路により代謝されている。

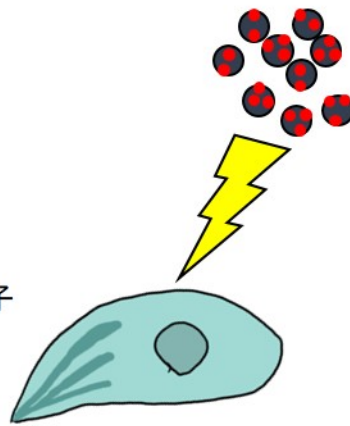
(注4) アピコンプレックス門原虫

約5,000種の原虫が知られています。すべてが寄生種で、人あるいは家畜の原虫病の病原原虫としての重要種の多くが含まれています。少なくとも、発育環の一時期の虫体がアピカルコンプレックスと呼ばれる特殊な構造を虫体の前端（頂端）に有することがこの門の特徴です。



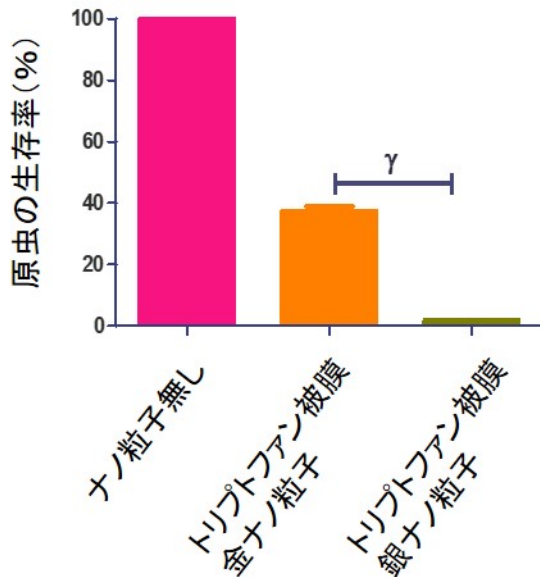
トリプトファン被膜金ナノ粒子の電子顕微鏡像

アミノ酸被膜金属ナノ粒子



トキソプラズマの虫体

トリプトファン被膜金属ナノ粒子のトキソプラズマに対する増殖阻止試験



8. 添付資料 :

(図左上) アミノ酸の1つであるトリプトファンで被膜した金属ナノ粒子の1つである金ナノ粒子の電子顕微鏡像 (ナノテクノロジープラットフォーム事業 千歳科学技術大学 撮影)。

(図右上) アミノ酸被膜金属ナノ粒子による抗トキソプラズマ効果の模式図。

(図下) 各種の金属ナノ粒子 (10 ng/ml のトリプトファン被膜金ナノ粒子、0.6 ng/ml の銀ナノ粒子) の存在下で 48 時間経過後のトキソプラズマの増殖への影響を、原虫の生存率を指標として解析した結果です。各トリプトファン被膜金属ナノ粒子が原虫の生存を抑制することが明らかとなりました。