

受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 28年 6月 21日

採択番号	27-共同-5		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	五十嵐 郁男
研究課題名	抗生物質など天然由来化合物の抗バベシア活性評価と 新規治療・予防薬への応用		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	いしやま あき 石山 亜紀	北里大学北里生命科学研究所 熱帯病研究センター・特任助教	
研究分担者	いわつき まさと 岩月 正人	北里大学北里生命科学研究所 熱帯病研究センター・講師	
	ほかり れい 穂苅 玲	北里大学北里生命科学研究所 熱帯病研究センター・研究員	
	きよはら ひろあき 清原 寛章	北里大学北里生命科学研究所 大学院感染制御科学府 和漢薬物学 研究室・教授	
	おとぐろ かずひこ 乙黒 一彦	北里大学北里生命科学研究所 熱帯病研究センター・研究員	
	いがらし いくお 五十嵐 郁男	帯広畜産大学原虫病研究センター・診断治療研究部門・教授	
研究期間	平成27年4月1日 ～ 平成28年3月31日		
目的・趣旨	<p>北里大学 北里生命科学研究所 熱帯病研究センター(以下、北里大)では微生物代謝産物などの天然物を創薬資源として <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> で有効な抗マラリアおよび抗トリパノソーマ原虫活性物質を取得し、一部は創薬リード化合物として種々の合成展開を進めて創薬研究を行っている。抗原虫活性物質ライブラリーはこれらの化合物群から構成されており、随時更新している。</p> <p>動物の neglected disease の一つとしてバベシア症が畜産領域で注目されてきている。バベシアもマラリア原虫やトリパノソーマ原虫と同様に住血原虫であり、一部の抗マラリア剤および抗トリパノソーマ剤が抗バベシア効果を示すことが明らかになっている。</p> <p>このような背景のもと、北里大の保有する抗原虫活性物質ライブラリーからバベシア治療薬のシード化合物を見出すことを目的に <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> マウス実験系での抗バベシア活性評価を本助成により継続してきた。H27年度は(1)北里大の保有する抗原虫活性物質ライブラリーを用いた抗バベシア活性物質のスクリーニングを継続するとともに、(2)先行評価化合物(BF90477、BF00324)について高次評価を進める。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究経過の概要</p>	<p>本共同研究はH23年度より北里大で見出された抗原虫活性物質ライブラリーについて、帯広畜産大学（五十嵐教授）の下、以下の原虫種で抗バベシア活性評価を行うことで新たな治療薬シードの発見を目指すために開始した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <i>in vitro</i> 培養牛バベシア (<i>Babesia bovis</i> および <i>B. bigemina</i>) ・ <i>in vitro</i> 培養馬バベシア (<i>T. equi</i> および <i>B. caballi</i>) ・ <i>in vivo</i> マウスバベシア (<i>B. microti</i>) 感染モデル <p>(1) <i>In vitro</i> 培養原虫での評価の継続</p> <p>これまでに主に数種類の先行評価化合物の <i>in vitro</i> 抗バベシア活性評価が為されて来た。</p> <p>H27年度も抗原虫活性物質ライブラリーの抗バベシア活性評価は継続して行っている。また、新たな抗バベシア活性評価サンプルを取得するために北里大の抗原虫活性物質ライブラリーの拡充を継続して行なった。</p> <p>(2-1) BF90673 および類縁体の検討</p> <p>先行評価化合物のうちBF90673 (clofazimine)が20mg/kg (経口) で標準薬 Ganazeg (25mg/kg, 皮下) と同等の <i>in vivo</i> 抗バベシア活性を示すことを見出した。本結果を帯広畜産大学および北里大の共同出願として国内特許 (国内特許 13-138824) およびPCT出願に至った。なお、本化合物は <i>in vivo</i> 抗マラリア (<i>P. berghei</i> N) および抗トリパノソーマ原虫 (<i>T. b. brucei</i> S427) 活性評価において20 mg/kg (経口) でも治療効果を示さなかったことからバベシアに対して高い原虫特異性を有する可能性が示唆されたが、五十嵐教授による追加実験から <i>in vivo</i> マウス感染実験においてはバベシアを完全に排除できないことが明らかとなった。このため、本化合物単剤ではなく他の抗バベシア活性物質との組み合わせによる検討が必要である、としてまとめた論文をAntimicrob. Agents Chemother (AAC) に投稿し論文が掲載された (「研究成果の概要」を参照)。</p> <p>さらにBF90673 の類縁化合物の一つであるBF90477 (<i>B. caballi</i>, <i>B. bigemina</i> に対する <i>in vitro</i> 抗バベシア活性: IC₅₀ = 6.4 μM, 1.7 μM) についてマウスバベシア (<i>B. microti</i>) 感染モデル系を用いての評価を計画中である。</p> <p>(2-2) BF00324 の検討</p> <p>先行評価化合物のうちBF00324 (北里大で取得した抗マラリア活性物質) が <i>in vitro</i> 抗バベシア活性を示すことを見出した。これまでに構造活性相関を明らかにするためにBF00324 誘導体ライブラリーの整備 (保有量確認など) を実施した。H27年度はマウスバベシア (<i>B. microti</i>) 感染モデル系を用いての評価を計画中である。</p>
----------------	--

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>プロジェクト毎にH27年度の成果と今後の予定を以下に示す。</p> <p>(1) <i>In vitro</i> 培養原虫での評価の継続 抗原虫活性物質ライブラリーの抗バベシア活性評価は継続して行っている。 次候補化合物を選択するために抗原虫活性物質ライブラリーの拡充をすべく抗マラリア活性を中心に北里大の天然物ライブラリーについてスクリーニングを行ない、新たに <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> で効果を示す化合物を数種得ることができた。これら化合物の種々の抗原虫活性、細胞毒性、その他生物活性などの詳細を北里大で検討し、さらに構造活性相関的な検討を行うためにこれらの誘導體も種々作製する予定。これらの結果から数種の化合物を選択し抗バベシア活性評価へと進む予定。</p> <p>(2-1) BF90673 および類縁体の検討 BF90673 に良好な抗バベシア活性が認められたことから同様の phenazine 骨格を有する化合物として北里大で購入もしくは発酵法による調製した 3 化合物については帯広畜産大学において引き続き <i>in vitro</i> 評価を進めている。BF90673 と他剤の併用効果についても検討を継続している。BF90673 の類縁体である BF90477 についてもマウスバベシア (<i>B. microti</i>) 感染モデル系を用いて検討を進めている。 併用薬剤候補を抗原虫ライブラリーから選択する可能性もあると考え、種々候補を選択すべく先述のように検討中である。</p> <p>(2-2) BF00324 の検討 構造活性相関を明らかにするための BF00324 誘導體ライブラリーの整備 (保有量確認など) を完了した。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>BF90673 の抗バベシア活性についての論文が掲載された。 AAC 60:2739-2746(2016). Clotazimine Inhibits the Growth of <i>Babesia</i> and <i>Theileria</i> Parasites <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i>. Tuvshintulga B, AbouLaila M, Davaasuren B, Ishiyama A, Sivakumar T, Yokoyama N, Iwatsuki M, Otaguro K, Omura S, Igarashi I.</p>