

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29年5月29日

採択番号	28 共同-8		
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	鈴木 宏志
研究課題名	マラリア原虫感染症に対する高脂血症治療薬プロブコール等の 血中ビタミン E 濃度に影響する薬物の効果に関する研究		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	しちり もとただ 七里 元督	バイオメディカル研究部門 次世代メディカルデバイス研究グループ 主任研究員 ビタミン E 減少作用薬の細胞実験でのスクリーニング	
研究分担者	あかさわ ようこ 赤澤 陽子	バイオメディカル研究部門 次世代メディカルデバイス研究グループ 研究員 脂質酸化生成物、ビタミン E の測定	
	くめ あいこ 久米 愛子	帯広畜産大学原虫病研究センター スクリーニングで有用性を認めた薬剤の動物実験での検証	
	鈴木 宏志	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授 スクリーニングで有用性を認めた薬剤の動物実験での検証	
研究期間	平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日		
目的・趣旨	<p>現在までの帯広畜産大学原虫病研究センター感染免疫研究部門との共同研究の成果によって、高脂血症治療薬として臨床で使用されているプロブコールは血中ビタミン E 減少作用を介してマラリア感染赤血球減少作用・感染後のマウスの生存率改善作用を発揮できることを見出し報告した。しかしながら、体表面積比率で換算した場合、プロブコールの使用量が一般的に臨床で使用される投与量に比べ多いこと、他の脂質も減少することが問題点であった。そこで本共同研究では、既に構築したスクリーニング系を用いてビタミン E 減少効果を有する化合物の探索を実施する。</p>		
研究経過の概要	<p>血中のビタミン E が枯渇するビタミン E 結合蛋白質欠損マウスでは、マラリア原虫感染症に対する耐性を獲得することを鈴木、Herbas らが報告している (Am. J. Clin. Nutr. 2010;91:200-7.)。一方、研究代表者は、高脂血症治療薬プロブコールは脂質トランスポーター (ABCA1) の不活性化を介し肝細胞からのビタミン E 放出を抑えることを明らかにし、マウス血中ビタミン E 減少効果があることを報告している (J. Nutr. Biochem 2010;21:451-6.)。以上の研究成果を融合し、プロブコールをマウスに投与した場合、マラリア感染に対して顕著な抑制効果を示すことを 2015 年度に報告した (PLoS One. 2015;10(8):e0136014.)。しかしながら、目的・趣旨に記載のようにプロブコールを抗マラリア薬として使用するには問題点がある。そこで、本研究計画では本問題解決を目標として、ビタミン E 減少効果を有しマラリア感染に対して有効な薬剤の探索を行うこととした。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>平成 27 年度にビタミン E 減少効果を有する化合物のスクリーニングを目的とした培養細胞を用いたビタミン E 放出アッセイの構築を行った。具体的には、α-トコフェロール (ビタミン E) にアセチル基の付加された酢酸 α-トコフェロールを培地中に添加すると、細胞内に取り込まれた後、加水分解を受けアセチル基が解離し、α-トコフェロールとなる。細胞内で生成された α-トコフェロールは ABCA1 を介して培地中に放出される。培地中の α-トコフェロール濃度を既報に従い抽出し、電気化学検出器 HPLC-ECD にて測定することで、培地中に添加された酢酸 α-トコフェロールと細胞から放出された α-トコフェロール (ビタミン E) の量を個別に解析することができる。このアッセイ系を用いてプロブコールの効果を検証したところ、従来実施していたラジオアイソトープを用いたアッセイ系 (J. Nutr. Biochem 2010;21:451-6.) と同様のプロブコールによる細胞外へのビタミン E 放出抑制効果を解析できることを確認している。</p> <p>平成 28 年度は上述のビタミン E 放出アッセイ系を用いて、ビタミン E 減少効果を有する化合物の探索を行った。本年度 99 種類の化合物のスクリーニングを実施し、培地中のビタミン E 濃度 (細胞からのビタミン E の放出量) を 50% 以下に抑制し、かつ細胞生存率を 90% 以上に維持した化合物を 7 種類同定することができた。</p> <p>本研究計画申請時には、同定した化合物をマウスに投与し、血中ビタミン E 減少効果を検証、また最終的にはマラリア感染実験を行うことを予定していたが、マウスへ試験的に投与できるだけの化合物の生体への毒性・安全性の評価が実施できなかつたため、マウスへの投与実験の実施には至らなかつた。マウスへの投与実験を行うためには、スクリーニングにて得られた化合物の生体への毒性、安全性を、多種類の細胞を用いた実験等で確認していく必要があり、今後の課題といえる。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・平成 25 年 1 月 29 日に共同出願を行った特許「マラリアの予防または治療薬及びそのスクリーニング方法」は平成 29 年 2 月 3 日付けで特許登録となった (特許第 6083534 号)。 ・本研究計画研究分担者の久米は平成 28 年度に抗マラリア薬として使用されているアルテミシニンとプロブコールの併用で顕著なマラリア感染抑制効果が得られることを Malaria Journal 誌にて発表した (ProbucoL dramatically enhances dihydroartemisinin effect in murine malaria. Malaria Journal 2016;15:472)。 ・本研究に関する今までの経過および成果を総説として化学と生物誌にて発表した (化学と生物 2016 年 54 巻 5 号 304 - 307 ページ)。 ・カニクイザルへのプロブコール投与によるビタミン E 減少効果に関して日本ビタミン学会第 68 回大会 (2016 年 6 月 17 日 富山県) にて口頭発表を行った。また、同内容に関しては論文化し、現在海外誌への投稿を行っている (未受理)。