

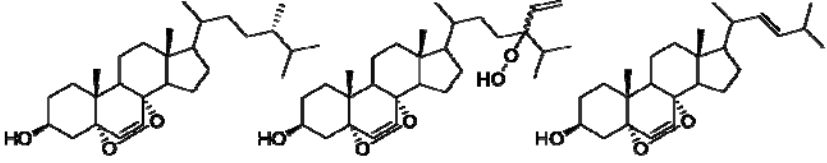
受理年月日	受理番号

## 帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成30年3月7日

採択番号			
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	菅沼啓輔
研究課題名	抗トリパノソーマ活性を持つ海洋生物由来リード化合物の探索		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	なかお よういち 中尾 洋一	早稲田大学理工学術院・教授 研究統括、活性化合物の精製・構造決定	
研究分担者			
	菅沼啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター 抗トリパノソーマ活性試験	
研究期間	平成29年4月1日 ～ 平成30年3月31日		
目的・趣旨	<p>トリパノソーマはトリパノソーマ科に属する二宿主性の原生生物である。これらは魚類、鳥類、哺乳類など幅広い宿主に感染し、トリパノソーマ症と呼ばれる様々な病気を引き起こす。ヒトに感染するトリパノソーマ症としては <i>Trypanosoma brucei</i> によるアフリカ睡眠病や <i>T. cruzi</i> によるシャーガス病などが有名であるが、これらの他にも <i>T. congolense</i> が牛や羊に感染するナガナ病や <i>T. equiperdum</i> が馬に感染する媾疫病などが知られている。これらの病気は病状が進行すると死に至る深刻な病気であるが、既存薬は強い副作用や耐性株の出現が問題となっているため、新薬の開発が望まれている。本研究ではトリパノソーマ症治療薬の新たなリード化合物を見出すため、抗トリパノソーマ活性を有する海洋天然化合物の探索を行った。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究経過の概要</p>	<p>抗トリパノソーマ活性は以下の方法により行った。初めに、96 well プレートに HMI-9 培地とサンプルを添加した後に、原虫 (<i>T. congolense</i>) を播種して 72 時間培養を行い、次に生細胞測定試薬として用いられる CellTiter-Glo® 試薬を添加し、10 分間静置した。この試薬に含まれるルシフェリンとルシフェラーゼが原虫細胞由来の ATP と反応することでオキシルシフェリンが生成されるとともに光が放出されるため、この発光強度を測定することで生存原虫数を算出し、抗原虫活性を導出した。</p> <p>抗トリパノソーマ活性を指標としたスクリーニングで浮かび上がった、山口県青海島産の海綿から活性本体の探索を行った。すなわち、本海綿 (880 g) のメタノール抽出物を溶媒分画、シリカゲルクロマトグラフィー、逆相 HPLC により分画し、得られた活性画分をさらに逆相 HPLC によって精製することで、3 つの活性化合物を得た。得られた化合物について MS および NMR スペクトルの測定を行い、これらの構造解析を行った。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>得られた 3 化合物はそれぞれ IC<sub>50</sub> 0.28、0.32、および 0.33 μg/mL で <i>T. congolense</i> に対する阻害活性を示した。同時に、これらの活性化合物について HeLa 細胞と P388 細胞への細胞毒性試験を行ったところ、この抗トリパノソーマ活性は細胞毒性と比較して 10 倍以上の選択性を示した。</p> <p>また、活性化合物について MS および NMR スペクトルの解析を行ったところ、得られた化合物は以下に示す化合物であることが同定された。これらは、抗トリパノソーマ活性化合物として報告されている 5α,8α-epidioxy-22E-ergosta-6,22-dien-3β-ol の類縁体であった。先行研究によって単離された化合物も 5α,8α-epidioxy sterol 類であることから、構造-活性相関を解析したところ、5 員環の側鎖の構造の違いにより活性が変化することが分かった。</p> <div style="text-align: center;">  <p>化合物1                      化合物2                      化合物3</p> </div>
<p>研究成果の発表</p>	<p>2018 年度中に日本化学会、日本寄生虫学会関連の学会等で発表を行うとともに、論文投稿を行う予定。</p>