

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

令和元年 5月30日

採択番号	30 共同-8		
研究部門	生体防御学分野	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文 教授
研究課題名	新規抗アピコンプレクサ類原虫剤の育種による生産性向上化およびバイオコンバージョンによる誘導体の創成		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	にへい こういち 二瓶 浩一	(公財) 微生物化学研究会微生物化学研究所・定年制研究員・研究総括と実験(抗原虫活性スペクトラムの検証)の実施	
研究分担者	いいじま まさとみ 飯島 正富	(公財) 微生物化学研究会微生物化学研究所・定年制研究員・抗原虫剤の生産性亢進株の開発	
	どい ひろやす 土井 宏育	(公財) 微生物化学研究会微生物化学研究所・定年制研究員・抗原虫剤のバイオコンバージョン法の開発	
	にしかわ よしふみ 西川 義文	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授・(役割分担) 抗原虫活性を持つ化合物の判定および検出系の開発	
研究期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31年 3月31日		
目的・趣旨	<p>アピコンプレクサ類原虫のトキソプラズマは、世界人口の約3割以上が感染していることが推定されており、その感染により、流産や新生児の先天性トキソプラズマ症を引き起こし、少子化が進む現代社会において大きな問題となっている。さらに、家畜の生産性の低下が問題視されるトキソプラズマの仲間であるネオスポラ感染による牛の流産例が全国的に見つかっており、被害の拡大が懸念される。一方、世界三大感染症の一つマラリアもアピコンプレクサ類原虫であるプラスモディウムの感染により発症し、年間3~5億人が罹患し、その内、約200万人もの命を奪う医学分野で重要な疾患である。我々はトキソプラズマをはじめとするアピコンプレクサ類原虫に対して極めて有効と考えられるメタサイトフィリン(MCF)を発見した(特願2017-243872)。アピコンプレクサ類原虫に対して <i>in vivo</i> および <i>in vitro</i> 系において優れた抗原虫活性を示すMCFは現存の方法では生産性が悪く、実用化に向けて生産方法の改善をする必要がある。本研究課題では育種によるMCFの生産方法の効率化および育種によるMCF誘導体変換方法の開発を行い、新たな原虫剤の創成を行うことを目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>原虫病薬のほとんどは、市場規模が新規原虫薬の開発費を下回るため、大手の製薬企業の関心は低いのが現状である。従って、利潤に左右されない公的研究機関で抗原虫薬の探索および創薬に向けた開発を実施することが重要である。我々の研究目的は感染者数の多いトキソプラズマによる繁殖障害問題を解決するための創薬に繋がる新規技術・有用化合物を提供することにある。これまでに我々は原虫薬開発に適した天然化合物ライブラリーの構築を行い、トキソプラズマ感染マウスに対する優れた治癒効果を示すMCFを発見した。しかしながら糸状菌によって産生されるMCFは、生産効率が悪く、化合物の生産性の向上化させる必要がある。MCFの実用化に向けて種々の動物実験をする必要があり、化合物量を担保することが必須である。MCFの生産性向上化および育種による構造活性相関解析に加え、他の原虫に対する抗原虫作用のパネル評価を行い、独自の新規抗原虫薬の実用化に向けた開発を実施した。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>MCF はトキシプラズマおよびネオスポラの他、マラリア原虫に対する抗原虫活性を示した。MCF は既存薬クロロキンと同レベルの抗原虫活性値を示した。さらに、MCF はクロロキン耐性マラリア原虫に対し、高い抗原虫活性を示した。世の中でマラリア既存薬に対する耐性株が出現している現状を考慮すると、MCF が次世代マラリア薬のリード化合物として発展することが期待できる。</p> <p>MCF が新たな原虫創薬における重要な意義を持つ化合物であることが明らかであるにも関わらず、現存の MCF 生産菌の育種による生産方法では、MCF の原虫に対する作用機序解析、小型および大型動物（マウス、ネコ、ヤギ、ニワトリ等）を用いた感染モデルを用いた解析を進めるのに必要な量を担保するのが困難な状況である。この現状を打開するために、低コストで且つ効率的な MCF の生産方法の開発が急務である。</p> <p>これまでの方法では、MCF 生産菌 (<i>Metarhizium</i> sp.) をリッター培養当たり MCF 収量が数 mg 程度（最大でも 10 mg 以下）の生産効率であった。我々の目標は精製工程を含めてリッター培養当たり 100 mg オーダー以上の MCF の収量を得る安定的な生産方法の開発である。本研究において、MCF 生産糸状菌への紫外線照射による突然変異導入および無機塩、アミノ酸添加物等、培地組成、培養条件の改良により、リッター培養当たり最大で約 60 mg オーダーの収量への向上化に成功した。本成果は大きな進展であり、MCF の実用化が期待できる結果でもあった。今後は精製工程を含め、リッター培養当たり 100 mg オーダーの MCF 収量を目指し、研究を進める予定である。一方、育種法により MCF のフェニル基にハロゲンの導入を試みた。その結果、ハロゲンがフェニル基の位置特異的に導入されることを確認し、フッ素を導入した MCF 誘導体の作成に成功した。フッ素の導入により高い抗原虫活性が得られることを期待したものの、実際にその抗原虫活性は MCF に比べて 1/20 程度であった。しかしながら、育種法により MCF の誘導体展開が可能であることが明らかとなり、今後も育種法による MCF の誘導体化による新規創薬の開発につなげていく予定である。</p> <p>本研究課題の成果により、有効な治療法および予防法が存在しない当該感染症対策に大きく貢献できると捉えている。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>該当なし</p>