

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2023年5月26日

採択番号	2022-共同-10		
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	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と作用機序解析		
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、作用機序解析	
研究分担者	なかむら ふみあき 中村 文彬	早稲田大学大学院先進理工学研究科・助教 活性化化合物の精製・構造決定	
	おおえだ かずき 大枝 一喜	早稲田大学大学院先進理工学研究科・修士2年 活性化化合物の精製・構造決定	
	すがぬま けいすけ 菅沼 啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター・助教	
研究期間	2022年4月1日 ～ 2023年3月31日		
目的・趣旨	<p>トリパノソーマ症に対する既存の薬剤には耐性株の出現や副作用などの問題があるため、依然として新たな治療薬開発のニーズは高い。そこで本研究では新たなトリパノソーマ治療薬のリード化合物を探索し、それらの作用機序解析を行うことを目的とする。具体的には、研究代表者が保有する海洋生物サンプルライブラリーを対象として、抗原虫活性スクリーニングを行い、ヒットサンプルから抗トリパノソーマ活性を有する天然化合物を探索する。研究代表者は研究分担者と協力して化合物の単離・同定・作用機序解析を担当し、貴センター菅沼啓輔助教が抗原虫活性試験を担当する。代表者の研究については一部を本共同研究経費により実施する。</p>		
研究経過の概要	<p>当研究室が保有する海洋無脊椎動物抽出物ライブラリー計 5,622 サンプルに対して、<i>T. congolense</i> に対する抗トリパノソーマ活性を指標としたスクリーニングを行った結果、125 サンプルがヒットした。大島新曾根産 <i>Theonella</i> 属海綿に着目して活性本体の探索を行った。海綿抽出物の分画・精製を行い、単離した活性成分について MS・NMR スペクトルを測定し、得られたスペクトルを解析し、活性本体は新規アルカロイドであることが明らかとなった。</p> <p>一方、食品中の抗トリパノソーマ活性化化合物に着目し、埼玉産春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> について活性本体の探索を行った。その結果 coronarin D をはじめとする抗トリパノソーマ活性化化合物を得た。これらの活性化化合物について、作用機序解析のため、原虫抽出物に含まれる標的タンパク質の探索に用いるプローブ分子の合成を行っている。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>貴センター菅沼啓輔助教との共同研究により、当研究室が保有する海洋無脊椎動物 2,811 検体から調整した、水溶性画分と脂溶性画分の計 5,622 サンプルに対して、<i>T. congolense</i> に対する抗トリパノソーマ活性を指標としたスクリーニングを行った結果、125 サンプルがヒットした。ヒットサンプルの中で抗トリパノソーマ活性と細胞毒性の比較を行い、選択的に抗トリパノソーマ活性を示した大島新曾根産 <i>Theonella</i> 属海綿に着目して活性本体の探索を行った。本海綿のメタノール抽出物を溶媒分画に付し、得られた活性画分を、ODS フラッシュカラムクロマトグラフィーおよび SiO₂ オープンカラムクロマトグラフィーにより順次精製し、化合物 1 を得た。化合物 1 の MS および各種 NMR スペクトルを測定し、スペクトル解析を行ったところ、化合物 1 はイミダゾール環を含む新規アルカロイド化合物であると構造決定できた。</p> <p>本化合物については、化学プローブが結合したビーズを合成し、プローブ分子に結合する標的タンパク質をトリパノソーマ原虫抽出物からつり上げ、SDS-PAGE および MS/MS 解析によって同定する予定である。同定した標的タンパク質について、パスウェイ解析を行うことで、化合物の作用メカニズムを検討する。</p> <p>また、食品中に含まれる抗トリパノソーマ活性化合物の探索を目的として、埼玉産春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 抽出物について <i>T. congolense</i> に対する発育阻害活性成分の探索を行った。<i>Curcuma aromatica</i> 抽出物について、活性画分を各種クロマトグラフィーを用いて精製した。活性本体の MS、NMR スペクトルを測定し、そのスペクトルを解析することで coronarin D (IC₅₀ = 1.5 μM) およびその類縁体を活性本体として同定した。これらの化合物について、抗トリパノソーマ活性に関する構造-活性相関解析の結果、活性発現に重要な構造モチーフを明らかにしたため、論文としてまとめている。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>(論文)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nakamura, F.; Kimura, H.; Fusetani, N.; Nakao, Y. Two Onnamide Analogs from the Marine Sponge <i>Theonella conica</i>: Evaluation of Geometric Effects in the Polyene Systems on Biological Activity. <i>Molecules</i>, 28, 2524, (2023). https://doi.org/10.3390/molecules28062524. 2. Aihara, K.; Nakamura, F.; Nakao, Y. Alotamide B, a New Cyclic Depsipeptide Isolated from Assemblies of Marine Cyanobacteria, Mainly Consisting of <i>Moorena</i> sp. <i>Chem. Lett.</i>, 52, 270-272, (2023). https://doi.org/10.1246/cl.230035 <p>(学会発表)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 大枝一喜, 菅沼啓輔, 中村文彬, 中尾洋一, 『春ウコン由来の抗トリパノソーマ活性化合物の探索』, 第 12 回 CSJ 化学フェスタ 2022, 東京, 2022.10.18. 2. 大枝一喜, 菅沼啓介, 中尾洋一, 『春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 由来抗トリパノソーマ活性化合物の探索』, 第 91 回日本寄生虫学会大会, 帯広, 2022.5.28.