

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2026 年 5 月 31 日

採択番号	2025 共同-3		
研究部門	創薬研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	抗トキソプラズマ剤標的の原虫リサイクリングエンドソームにおける創薬基盤の構築		
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 研究総括と実験の実施	
研究分担者	いがらし まさゆき 五十嵐 雅之	(公財)微生物化学研究会微生物化学研究所・部長 化合物生産菌ブロスおよび化合物ライブラリー資源の開発	
	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)原虫サンプル調製, 抗原虫活性の検証	
研究期間	2025 年 4 月 1 日 ～ 2026 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	トキソプラズマは、世界人口の1／3以上が感染していると推定されている。その感染により、流産、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回避できない問題となっている。さらに、畜産業界において、アピコンプレクサ原虫他、原虫感染症による家畜の生産性の低下が国内外で問題視され、経済的損失は大きく、地球規模での被害額は年間約数千億円にのぼるとの試算もある(Reichel et al. <i>Int J Parasitol.</i> 2012)。一方、世界三大感染症のマラリアは、世界で年間3～5億人が罹患し、その内約200万人もの命を奪い、コロナ禍に影響されことなく医学分野で重要な疾患である。我々は、有効な抗原虫薬を開発するために、当研究所で分離した放線菌、糸状菌由来の天然物を中心に化合物のライブラリー化を進めている。その成果として、トキソプラズマおよびマラリアモデルに対して有効な治癒効果を示すメタサイトフィリン(MCF)を初めとする原虫薬候補化合物を西川義文教授と共同で発見している。我々は、MCF の作用機序解析から原虫のオルガネラ機能が混沌とするエンドソーム系の中でも Rab11 が局在マーカーとして知られる分泌との分岐経路のリサイクリングエンドソームを含む輸送経路が有効な標的の一つであることを突き止めている。さらに、広域の抗原虫活性を示すゴルジ体ストレス剤類縁体キジマイシン(KJM)もゴルジ体、エンドソーム系周辺の膜系が標的と考えられる。しかしながら、原虫の膜交通経路における小胞輸送の実態、オルガネラ機能の身元について未だ解明されない点が残っている。 本研究は、抗原虫剤の有効な標的と考えられるトキソプラズマのリサイクリングエンドソームの実体を解明することを目的とし、原虫創薬の基盤構築に繋げる。		
研究経過の概要	これまでに、われわれ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、広域の抗原虫活性を示す MCF, KJM, 重症化マラリア感染モデルに対して有効な抗原虫作用を示すフェベスチン(PBT)を見出してきた(1-6)。マラリアの有効な既存薬アルテミシニンの標的(Kelch-12)が分泌とエンドソームの分岐経路が標的であることも最近の研究から分かっている。しかし、標的の明確な膜系の局在性について明らかにされていない。		

	おそらく我々が見出している有効と考えている薬剤標的と近い部位であり、本研究の解明により明らかになると予測している。
研究成果の概要	昨年度までに MCF の標的部位の一つが原虫の Sar1GEF ホモログに含まれる Cys リピートドメイン周辺であることを実験および計算機化学を用いて確認した。 今年度は、トキソプラズマのリサイクリングエンドソーム (RE) の実体を明らかにするために、種間で保存されている局在マーカーである Rab11 に対する抗体を調製した。トキソプラズマは、Rab11 を 2 種類 (a, b) 持つことから各々の抗体をウサギ、モルモットを用いて各々ポリクローナル抗体を調製した。しかしながら抗体価が上がらず、実験で用いることが可能な抗体が得られなかった。現在、再調製を進めている。一方、原虫の RE を捉える目的でエンドサイトーシス経路から蛍光標識した栄養体 (トランスフェリン) カーゴ、その対照に蛍光標識した毒素 (コレラ毒素サブユニット B) カーゴの取り込みによるパルスチェイス検出系の構築を進めた。しかし、原虫数と蛍光カーゴとのバランスが未だ捉えられていない現状であり、継続して解析を進めている。 一方、これまでの原虫研究で感染率が低いために <i>in vitro</i> 系培養による生育の検出が困難であったクリプトスポリジウムの化学発光タンパク質の発現系を利用し、生育を指標に、薬剤スクリーニング可能な系の構築に成功した。更に、ゴルジ体が標的の KJM が高い抗原虫活性を示すことも明らかになった (8)。
研究成果の発表	1. Leessombun A, Iijima M, Umeda K, Kondoh D, Pagmadulam B, Abdou AM, Suzuki Y, Ohba SI, Isshiki K, Kimura T, Kubota Y, Sawa R, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Metacytofilin is a potent therapeutic drug candidate for toxoplasmosis. <i>J Infect Dis</i>. 221 (5).pp764-776. doi: 10.1093/infdis/jiz501. 2020. 2. Leesombun A, Iijima M, Pagmadulam B, Orkhon B, Doi H, Sawa R, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Metacytofilin has potent anti-malarial activity. <i>Parasitol Int</i>. 2021 81, 102267. doi:10.1016/parint.2020.102267. 2021. 3. <u>Nihei C</u>, Nakanishi M. Cargo selection in the early secretory pathway of African trypanosomes. <i>Parasitol Int</i>. 84, 102379. doi: 10.1016/j.parint.2021.102379. 2021. 4. Leesombun A, Kondoh D, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Polyether ionophore kijimicin inhibits growth of <i>Toxoplasma gondii</i> and controls acute toxoplasmosis in mice. <i>Parasitol Res</i>. doi: 10.1007/s00436-021-07363-w. 2021. 5. Ariefta NR, Pagmadulam B, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Sparsomycin Exhibits Potent Antiplasmodial Activity In Vitro and In Vivo. <i>Pharmaceutics</i>. 14(3):544. doi: 10.3390/pharmaceutics14030544. 2022. 6. Ariefta NR, Pagmadulam B, Hatano M, Ikeda N, Issiki K, Matoba K, Igarashi M, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Antiplasmodial Activity Evaluations of a Bestatin-related Aminopeptidase Inhibitor, Phebestin. <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i>. 67 (7):1-14. 2023.

- | | |
|--|---|
| | <ol style="list-style-type: none"> <li data-bbox="368 190 1414 383">7. Chen Y, Shimoda N, <u>Nihei C</u>, Sawa R, Takahashi Y, Nishigori M, Nakamura M, Koshiba T, Ushio N, Nishikawa Y. Mitochondrial damage and IL-18 production of monocytes by <i>Neospora caninum</i> infection is mediated by dense granule protein 7 and prohibitins. <i>Frontiers in Immunology</i>. Nov 20:16:1408992. doi: 10.3389/fimmu.2025.1408992. 2025. <li data-bbox="368 427 1414 575">8. Kubota R, <u>Nihei C</u>, Nishikawa Y. Development of a Luciferase-Based In Vitro Assay to Evaluate the Efficacy of Anti-Cryptosporidial Drugs Against <i>Cryptosporidium parvum</i>. <i>Pharmaceuticals</i> (Basel). 2026 Apr 3;19(4):576. doi: 10.3390/ph19040576. PMID: 42075832. 2026. |
|--|---|