

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22940

研究課題名(和文)原虫への増殖抑制効果をもつアミノ酸被膜金属ナノ粒子の開発

研究課題名(英文) Establishment of amino acid-capped metal nanoparticle for enhancing anti-protozoan activity

研究代表者

加藤 健太郎 (KATO, Kentaro)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：30401178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：トキソプラズマ症は、妊婦の感染により流産や胎児の脳症等の先天性感染症を、エイズ患者等には重篤な症状をもたらすことがある人獣共通感染症である。現状、治療のための薬剤は限られており、薬価の高騰もあり、代替薬が求められている。これまでに研究代表者は、金属ナノ粒子が特異的にトキソプラズマの増殖阻止に働くことを明らかとしてきた。今回、金属ナノ粒子の表面にアミノ酸を被膜することで、トキソプラズマへの増殖阻止作用が増大することを明らかとした。トリプトファン被膜金属ナノ粒子の抗原虫作用には、酸化ストレスや低酸素誘導因子の調節によるキヌレニン経路の活性化等のトリプトファン代謝経路が関わっていることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トキソプラズマ症には全世界人口の約3割が潜伏感染状態と推定され、世界で広く分布しているが、現状のトキソプラズマ治療のための薬剤は限られていることから、代替薬が求められている。一方で、ナノテクノロジーの発展により同技術の医療への利用の可能性が期待され、様々な疾患に対する将来的な治療方法の1つとして研究が進められている。本研究の成果は、金属ナノ粒子を基にした新規の抗トキソプラズマ薬としての可能性だけでなく、抗原虫作用の分子メカニズムの解明に向けた新たな知見を提供する。粒子の大きさ、他の特性を変化させることで医学応用が図られ、特に活性酸素種の生成を促進することで病原体の殺傷に効果がある可能性がある。

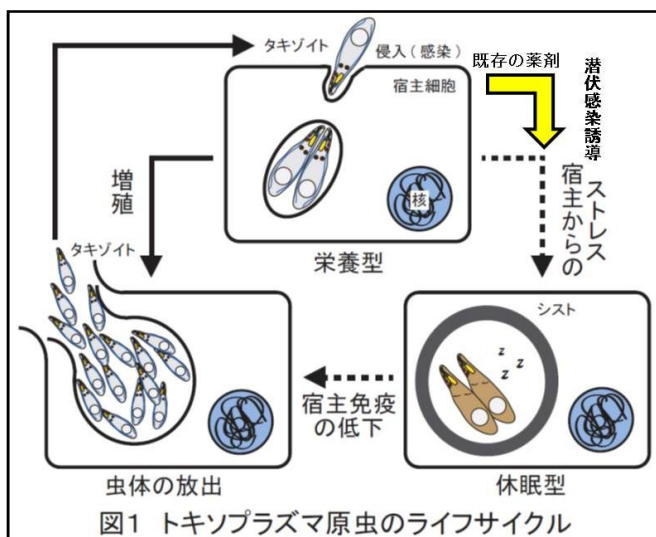
研究成果の概要(英文)：Toxoplasma gondii causes toxoplasmosis, a common infection against which better drugs are needed. Recently, we showed that inorganic nanoparticles have anti-Toxoplasma activity. Here, we sought to enhance the anti-parasitic efficacy and host biocompatibility of these nanoparticles by modifying their surface with amino acids. Amino acid-capped nanoparticles (amino-NPs) were synthesized, purified, and then screened for anti-Toxoplasma activity in in vitro infection models. The amino-NPs showed enhanced anti-parasitic selectivity as well as improved host biocompatibility. Oxidative stress, modulation of host HIF-1, and activation of the kynurenine pathway contributed to the anti-parasitic action of the amino-NPs.

研究分野：感染症学

キーワード：金属ナノ粒子 アミノ酸被膜 原虫 増殖抑制効果

### 1. 研究開始当初の背景

トキソプラズマ原虫は、マラリア原虫等と同じくアピコンプレックス門に属する原虫であり、猫科動物を終宿主とする人獣共通感染症である。ネコの糞便中の虫卵あるいは生肉中の虫体から経口感染し、世界人口の約3割が感染している。妊婦が初めて感染すると、流産や胎児の脳症、痙攣、水頭症、頭蓋内石灰化等を起こす。健康な成人では通常無症状であるが、胎児・幼児、臓器移植やエイズ患者など、免疫抑制状態にある場合には重症化



して死に至ることもあり、重篤な日和見感染症である。予防するためのワクチンはない。2012年9月に日本で患者会が設立され、NHKでもその被害が取り上げられた。ユッケやレバ刺しの食用等の近年の食習慣の変化や食材流通のグローバル化による有害な食材の流入に伴い、先天性トキソプラズマ症が拡大し、思春期に症状が出ることもあることから無自覚のものも含めると我が国の新生児において年数百件の被害があると推定されている。

金属ナノ粒子は、一般的な大きさの金属個体（バルク）とは異なる物理的、化学的特性（溶融温度・焼成温度の大幅な低下、蛍光発光、触媒の高効率化・新規反応）を持つ。これらの特性は金属ナノ粒子の比表面積が極めて大きいことに起因する。また、その量子サイズによって特有の物性を示す。さらに、金属ナノ粒子は微生物を殺滅する活性酸素種を産生する能力があり、膜透過性も持つ。

### 2. 研究の目的

研究代表者らは金属ナノ粒子がトキソプラズマの増殖阻害阻止に効果があることを世界に先駆けて見出した（*Int J Nanomedicine* 2017）。この我々独自の萌芽的知見を基に本研究では、アミノ酸被膜金属ナノ粒子が原虫の増殖を抑制するメカニズムを明らかにすること、より効果を発揮する金属ナノ粒子の形態を追求することを、研究目的とする。

### 3. 研究の方法

細胞培養、潜伏感染実験、動物感染実験が可能である等の理由から、本研究ではトキソプラズマ、トリパノソーマを寄生虫のモデルとして使用した。金属ナノ粒子としては、白金、金、銀、酸化鉄及びこれら2種の合金に加え、単細胞生物である原虫や宿主細胞への取り込みの容易さを考え、アミノ酸被膜した金属ナノ粒子についても、培養細胞及び動物感染モデル系においてナノ粒子の動態解析を行った。具体的には以下の項目について研究を行った。

#### (1) 原虫感染細胞におけるアミノ酸被膜金属ナノ粒子の原虫増殖阻害効果の解析

アミノ酸被膜金属ナノ粒子の存在下でトキソプラズマの活性化虫体（栄養型）であるタキゾイドに対する増殖阻害試験を行った。β-ガラクトシダーゼ導入トキソプラズマ原虫株 2F を使用し、β-ガラクトシダーゼを定量するため、発光基質にβ-glo を用いる高感度発光アッセイにより解析を行った。

#### (2) 金属ナノ粒子の哺乳類細胞（宿主細胞）への細胞毒性の解析

ピリメサミン等のトキソプラズマ原虫のタキゾイトへの増殖阻止に効果があることが知られている薬剤を参照薬として用い、実際に、アミノ酸被膜金属ナノ粒子が原虫の宿主細胞である Vero 細胞、HFF 細胞などに細胞毒性を持たないか、細胞生残率の解析を行った。

(3) 原虫のシスト(休眠型虫体)に対するナノ粒子の効果の解析

培養条件の pH を高くすることで、トキソプラズマを潜伏感染へと誘導する。アミノ酸被膜金属ナノ粒子がシストの膜を通過し、シストの成熟を阻害するかを解析した。

(4) 金属ナノ粒子の原虫増殖抑制メカニズムの解析

まず、活性酸素種が関与しているか解析を行う。抗酸化剤である Trolox の存在下でアミノ酸被膜金属ナノ粒子の抗原虫効果を解析することで活性酸素種の関与の有無を解析した。金属ナノ粒子の存在下で活性酸素種の産生を測定した。次に、金属ナノ粒子存在下での原虫内ミトコンドリアの膜電位の影響について、解析を行った。

(5) 感染動物実験による原虫に対するナノ粒子の動態の解析

トリパノソーマ感染マウスに金属ナノ粒子を投与し、血液中の感染原虫数の計測を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 原虫感染細胞におけるアミノ酸被膜金属ナノ粒子の原虫増殖阻害効果の解析

8 種類のアミノ酸について、金、銀、白金のナノ粒子に被膜し、トキソプラズマのタキゾイドに対する増殖阻害試験を行った。この結果、トリプトファンのみが特異的にトキソプラズマに対する増殖阻止効果を高めることが明らかとなった。トリプトファン被膜が十分であるかについても、電子顕微鏡、発光スペクトル、赤外スペクトルの測定によって、確認した。

(2) 金属ナノ粒子の哺乳類細胞(宿主細胞)への細胞毒性の解析

トリプトファン被膜金属ナノ粒子は、原虫の宿主細胞である HFF 細胞に金属ナノ粒子の使用濃度では細胞毒性を持たないことを明らかとした。

(3) 原虫のシスト(休眠型虫体)に対するナノ粒子の効果の解析

トリプトファン被膜金属ナノ粒子がトキソプラズマの潜伏感染虫体であるシストの成熟阻害に効果はあるものの、その効果は乏しい。

(4) 金属ナノ粒子の原虫増殖抑制メカニズムの解析

トリプトファン被膜金属ナノ粒子の抗原虫作用には、酸化ストレスや低酸素誘導因子の調節によるキヌレニン経路の活性化等のトリプトファン代謝経路が関わっていることがわかった。

(5) 感染動物実験による原虫に対するナノ粒子の動態の解析

トリパノソーマ感染マウスに金属ナノ粒子を投与した結果、血液中の感染原虫数の増加への立ち上がりまでの日数が遅くなることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 7件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Han Yongmei, Adeyemi Oluyomi Stephen, Kabir Mohammad Hazzaz Bin, Kato Kentaro	4. 巻 119
2. 論文標題 Screening of compound libraries for inhibitors of Toxoplasma growth and invasion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology Research	6. 最初と最後の頁 1675 ~ 1681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00436-020-06673-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Adeyemi Oluyomi Stephen, Eseola Abiodun Omokehinde, Plass Winfried, Atolani Olubunmi, Sugi Tatsuki, Han Yongmei, Batiha Gaber El-saber, Kato Kentaro, Awakan Oluwakemi Josephine, Olaolu Tomilola Debby, Nwonuma Charles Obiora, Alejelowo Omokolade, Owolabi Akinyomade, Rotimi Damilare, Kayode Omowumi Titilola	4. 巻 119
2. 論文標題 Imidazole derivatives as antiparasitic agents and use of molecular modeling to investigate the structure-activity relationship	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology Research	6. 最初と最後の頁 1925 ~ 1941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00436-020-06668-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Murakoshi Fumi, Bando Hironori, Sugi Tatsuki, Adeyemi Oluyomi Stephen, Nonaka Motohiro, Nakaya Takaaki, Kato Kentaro	4. 巻 14
2. 論文標題 Nullscript inhibits Cryptosporidium and Toxoplasma growth	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 159 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpddr.2020.10.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Miyata Makoto, Robinson Robert C., Uyeda Taro Q. P., Fukumori Yoshihiro, Fukushima Shun ichi, Haruta Shin, Homma Michio, Inaba Kazuo, Ito Masahiro, Kaito Chikara, Kato Kentaro et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Tree of motility ? A proposed history of motility systems in the tree of life	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 6 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Adeyemi Oluyomi Stephen, Murata Yuho, Sugi Tatsuki, Han Yongmei, Kato Kentaro	4. 巻 66
2. 論文標題 Nanoparticles show potential to retard bradyzoites in vitro formation of Toxoplasma gondii	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Folia Parasitologica	6. 最初と最後の頁 pii: 2019.001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14411/fp.2019.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Adeyemi Oluyomi Stephen, Eseola Abiodun Omokehinde, Plass Winfried, Kato Kentaro, Otuechere Chiagoziem A., Awakan Oluwakemi Josephine, Atolani Olubunmi, Otohinoyi David Adeiza, Elebiyi Tobiloba Christiana, Evbuomwan Ikponmwoosa Owen	4. 巻 349
2. 論文標題 The anti-parasite action of imidazole derivatives likely involves oxidative stress but not HIF-1 signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemico-Biological Interactions	6. 最初と最後の頁 109676 ~ 109676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cbi.2021.109676	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Oluyomi Stephen Adeyemi, Nthatisi Innocentia Molefe-Nyembe, Abiodun Omokehinde Eseola, Winfried Plass, Oluwatosin Kudirat Shittu, Ibrahim Olatunji Yunusa, Olubunmi Atolani, Ikponmwoosa Owen Evbuomwan, Oluwakemi J Awakan, Keisuke Suganuma, Kentaro Kato	4. 巻 94
2. 論文標題 New Series of Imidazoles Showed Promising Growth Inhibitory and Curative Potential Against Trypanosoma Infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE	6. 最初と最後の頁 199 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 伴戸寛徳、福田康弘、加藤健太郎
2. 発表標題 ヒトの脳神経細胞内におけるトキソプラズマのステージ変換メカニズムの解明
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸寛徳、福田康弘、山本雅裕、加藤健太郎
2. 発表標題 ヒトの脳細胞における宿主-トキソプラズマ間相互作用の解明
3. 学会等名 第163回日本獣医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸寛徳、福田康弘、加藤健太郎
2. 発表標題 ヒトの脳神経細胞におけるトキソプラズマの潜伏感染虫体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第90回日本寄生虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伴戸寛徳、福田康弘、加藤健太郎
2. 発表標題 脳神経細胞内グルタミン濃度の変化がトキソプラズマの潜伏感染虫体形成に及ぼす影響
3. 学会等名 第164回日本獣医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井昂世、赤星栄治、伴戸寛徳、福田康弘、小川智之、加藤健太郎
2. 発表標題 酸化鉄ナノ粒子を用いた抗トキソプラズマ効果の解析
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kentaro Kato
2. 発表標題 The pathogenesis and clinical manifestations of and anti-parasitic drug development for malaria and toxoplasmosis
3. 学会等名 The symposium of the Korean society for parasitology 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 加藤健太郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 公益社団法人 日本動物用医薬品協会	5. 総ページ数 20
3. 書名 「JVPA DIGEST」 原虫の感染・増殖メカニズムと抗原虫薬の開発について	

1. 著者名 加藤健太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 90
3. 書名 金属ナノ粒子の抗原虫効果とアミノ酸被膜による向上「BIO INDUSTRY」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東北大学大学院農学研究科動物環境管理学分野のホームページ  <a href="https://www.agri.tohoku.ac.jp/health/index.html">https://www.agri.tohoku.ac.jp/health/index.html</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ナイジェリア	LANDMARK UNIVERSITY			
中国	内モンゴル民族大学			