

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H05358・20K20369

研究課題名（和文）金属元素ターゲティング：病原性原虫の増殖抑制効果の発揮と作用機序解析

研究課題名（英文）The metal element targeting method that enables to the expression of growth inhibitory effects against pathogenic protozoa, and the analyses on their mode-of-actions

研究代表者

和田 章（Wada, Akira）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・専任研究員

研究者番号：90443051

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、マラリア原虫の生命活動に不可欠な金属元素を標的とする低分子化合物を合成・活用することで、薬剤耐性原虫等の増殖機能を制御する「金属元素ターゲティング」の新手法の開拓に取り組んだ。その結果、抗マラリア活性及び抗赤痢アメーバ活性を有する新たな金属親和性化合物を同定すると共に、それら化合物が発揮する増殖抑制効果等の作用機序を解析し、新たな創薬開発戦略としての金属元素ターゲティングの有用性及び汎用性の一端を証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤耐性マラリア原虫の世界規模での感染拡大により、新規マラリア治療薬の早期開発が熱望されている。しかし、突然変異による薬剤耐性原虫の発生を抑制する新たな創薬戦略を創出することは容易ではない。そこで、本研究課題では、薬剤耐性マラリア原虫及び赤痢アメーバ原虫等に対して増殖抑制効果を発揮する「金属元素ターゲティング」の新手法の開拓に取り組んだ。そして、本研究成果は、マラリアをはじめとする病原性原虫により発症する感染症に関する創薬研究の推進に貢献することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this research, a metal element targeting method has been uniquely developed to control the growth activities of pathogenic protozoa such as drug-resistant malaria parasites by using low-molecular-weight compounds that bind to metal elements essential for their life cycle. As a result, metal-binding compounds have been successfully identified to exhibit anti-malarial or anti-amebic activity. Furthermore, based on the analyses of the mode-of-actions that the compounds expressed the growth inhibitory effects against pathogenic protozoa, the utility and versatility of the method have been partially demonstrated.

研究分野：錯体化学・創薬

キーワード：感染症 病原性原虫 金属元素

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

世界三大感染症の一つであるマラリアは、ハマダラカの吸血と同時にマラリア原虫が体内に侵入することで発症する。そして現在、100カ国以上の地域において、年間約2億人が感染し、62万人以上の死亡者を出している。さらに、地球温暖化と交通手段の発達により世界規模で拡散するだけでなく、主要なマラリア治療薬(アルテミシニン・クロロキンなど)に対する薬剤耐性原虫の出現と蔓延が危機的状況をもたらしている。さらに近年、マラリア原虫のタンパク質を標的とする抗マラリア活性化化合物に対し、突然変異により抵抗性を示すマラリア原虫が短期間で出現することが証明された(*Sci. Rep.*, 2016, 6, 36971., *Science*, 2016, 352, 349., etc.)。つまり、薬剤耐性を獲得したマラリア原虫の発生に対抗するためには、既存薬の標的及び作用機序とは明確に異なる新たなマラリア治療薬の開発が必要不可欠である。また、熱帯・亜熱帯地域においては、マラリア原虫以外の病原性原虫により発症する感染症の多くは、有意な治療効果を発揮する医薬品及び治療法が開発されないまま置き去りにされているのが現状である。そのため、多様な病原性原虫に対抗しうる革新的な創薬戦略の早期開拓に期待が寄せられている。

一方、これまでに研究代表者は、金属酵素における金属活性中心の機能と構造を再現・解明するため、様々な金属錯体モデルの設計と合成に従事してきた(*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52, 12293., etc.)。そして今回、生命分子に關与する錯体化学の観点から、病原性原虫の生命活動に必須の金属元素の種類と役割に注目した。特に、赤血球に感染したマラリア原虫においては、ヘモグロビンの分解によりアミノ酸等の栄養分と金属元素を収集・活用する特殊な生命システムを構築していることは明らかである。また、正常な赤血球と比較した場合、マラリア原虫の感染に伴う赤血球内の金属元素(金属イオン)の濃度は、マラリア原虫の形態変化と共に変動していることが一部報告されている(*Chem. Biol.*, 2012, 19, 731.)。そこで、本研究課題では、これまでの錯体化学的知見を基盤とし、鉄などに代表される生命系金属元素に対して親和性を発揮する低分子化合物を合成・活用することで、各種マラリア原虫の増殖機能あるいは形態変化を制御する「金属元素ターゲティング」の新手法を開拓する。さらに、マラリア原虫以外の病原性原虫に対しても本手法を適用・評価することで、新たな創薬開発戦略としての有用性等を証明することを目指して取り組んだ。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、哺乳類動物とは明確に異なる“マラリア原虫の金属元素の収集と利用の分子機構”に着目した。そして、マラリア原虫の生命活動に必要な金属元素に対して特異的に結合する“金属親和性化合物”を合成・活用することで、薬剤感受性及び薬剤耐性マラリア原虫の増殖機能あるいは形態変化を制御する「金属元素ターゲティング」の新手法の開拓に取り組む。さらに、マラリア原虫に止まらず、病原性原虫により発症する感染症を対象とする創薬研究へと展開することで、新たな創薬開発戦略として金属元素ターゲティングの有用性及び潜在性を見定めることが目的である。

### 3. 研究の方法

本研究課題では、これまでに研究代表者が獲得してきた錯体化学的知見を拡張させることで、マラリア原虫内の金属イオンに対して親和的な相互作用を発揮する金属親和性化合物を収集・合成した。そして、ヒト赤血球に感染した熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)内において発現する乳酸脱水素酵素の酵素活性を指標とし、薬剤感受性及び薬剤耐性マラリア原虫の増殖活動を抑制する新規化合物を探索・同定した。さらに、抗マラリア活性を高度に発現する金属親和性化合物を対象とし、ヒト臓器由来の各種細胞株に対する細胞毒性レベルの評価も実施した。続いて、抗マラリア活性及びヒト細胞低毒性を併せ持つ金属親和性化合物に焦点を絞り、それら化合物が標的とする金属元素の同定をはじめ、マラリア原虫に対する増殖抑制効果等を発揮する作用機序を解析した。また、マラリア原虫を感染させた動物モデルにおける治療効果等についても一部検証した。そして、マラリア原虫以外の病原性原虫として、赤痢アメーバ原虫に作用する新たな金属親和性化合物の探索と薬効評価に取り組んだ。

#### 4. 研究成果

本研究課題では、ヒト赤血球に感染したマラリア原虫に由来する乳酸脱水素酵素の酵素活性を指標とし、熱帯熱マラリア原虫 *P. falciparum* に対して増殖活動を抑制する新規化合物を精力的に探索した。その結果、薬剤感受性及び薬剤耐性マラリア原虫(3D7・K1・Dd2 株など)のいずれに対しても nM 濃度レベルで増殖抑制効果を発揮する金属親和性化合物の同定に成功した。また、これらの化合物は、同じ濃度領域において、ヒト臓器(肝臓・肺・胃など)由来の各種細胞株に対しては殆ど毒性を示さなかった。つまり、金属親和性化合物が発揮する抗マラリア活性の高い特異性が示唆された。続いて、それら抗マラリア活性化合物の基本的な母格構造は維持しつつ、立体的構造及び静電的特性を多様化させた各種誘導体を合成し、上記と同様の評価を実施した。その結果、ヒト細胞に対する低毒性を保持しながら、オリジナル化合物よりも低濃度で抗マラリア活性を発現する誘導体を複数見出すに至った。そして、それら高活性誘導体に焦点を絞り、各種金属イオンを個別に共存させた条件における抗マラリア活性の変動やマラリア原虫の形態変化への関与などを多角的に調査した。その結果、金属親和性化合物は、赤血球内においてマラリア原虫が必要とする鉄イオンを標的として捕捉し、マラリア原虫の形態変化を停滞させることで増殖抑制効果を発揮する新たなメカニズムの存在を突き止めた。また、マラリア治療薬候補の創出を視野に入れ、マラリア原虫を感染させたマウスに対して、抗マラリア活性化合物の一部を投与したところ、原虫血症の改善による有意な治療効果が発揮されることを観測した。

さらに、マラリア原虫以外の病原性原虫の増殖活動を抑制する金属親和性化合物の創出にも取り組んだ。例えば、赤痢アメーバ症は、赤痢アメーバ原虫(*Entamoeba histolytica*)を含む汚染された飲料水や食物の経口摂取などを介して感染し、大腸炎や肝膿瘍などの腸管内外での病変を引き起こす感染症である。そこで、マラリア原虫に対する有効性を実証した金属元素ターゲティングの概念を適用し、抗アメーバ活性を発揮する新規化合物の探索と評価を実施した。その結果、ヒト細胞に対しては低毒性でありながら、赤痢アメーバ原虫に対しては顕著な増殖抑制効果を発揮する新たな金属親和性化合物を見出した。特記すべきは、この化合物は、赤痢アメーバ原虫内の鉄イオンを標的として捕捉するだけでなく、赤痢アメーバ原虫を感染させたハムスターにおいて発症した肝膿瘍を完治させた点である(*ACS Infect. Dis.*, 2022, 8, 457.)。つまり、これらの結果は、赤痢アメーバ原虫に対して増殖抑制効果を発現する金属親和性化合物を創出・評価した初めての例であり、金属元素ターゲティングに基づく創薬研究開発の潜在性の一端を証明するものとなった。

以上、本研究課題では、抗マラリア活性及び抗赤痢アメーバ活性を発揮する新たな金属親和性化合物を同定するだけでなく、それら病原性原虫に対する増殖抑制効果等の作用機序を解析した。これにより、「金属元素ターゲティング」の基盤原理を確立すると共に、新たな創薬開発戦略としての有用性の一端を実証した。そして、これまでに得られた研究成果は、日本寄生虫学会をはじめ、感染症創薬に関連する研究会やシンポジウムにおける講演等で公表すると共に、新たな創薬戦略に基づき取得したデータ及び知見については研究論文として発表した。また、今後の展開としては、新規マラリア治療薬候補の設計と創出を積極的に模索すると共に、その他の病原性原虫に由来する顧みられない感染症に関する創薬研究の推進に貢献することを目指して取り組む計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wada Akira, Umeki Yuko, Annoura Takeshi, Saito-Nakano Yumiko	4. 巻 8
2. 論文標題 In Vitro and In Vivo Antiamebic Activity of Iron-Targeting Polypyridine Compounds against Enteric Protozoan Parasite Entamoeba histolytica	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 457 ~ 462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsinfecdis.1c00418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akira Wada	4. 巻 -
2. 論文標題 Iron-Snatching Compound Effective against the Parasitic Amoeba Entamoeba histolytica	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RIKEN RESEARCH	6. 最初と最後の頁 -
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 朝日 博子、井上 信一、新倉 保、小林 富美恵、仙道 富士郎、和田 章
2. 発表標題 Artemisinin誘導体による赤内型熱帯熱マラリア原虫の分化増殖抑制とzinc homeostasisは密接に関連する
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 和田 章
2. 発表標題 錯体化学に基づく創薬研究の新展開 ~新規治療薬の創出を目指して~
3. 学会等名 第69回 日本感染症学会 東日本地方会学術集会・第67回 日本化学療法学会 東日本支部総会 合同学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Wada
2. 発表標題 From Modeling of Metalloenzyme Active Sites Toward Targeting of Metal Elements for Drug Discovery
3. 学会等名 RIKEN BDR Young Researchers Forum
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 和田 章
2. 発表標題 バイオメタルケミストリーに基づく抗マalaria活性化化合物の創出
3. 学会等名 第26回分子寄生虫学ワークショップ・第16回分子寄生虫・マalaria研究フォーラム合同大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 和田 章
2. 発表標題 生体内の金属元素に迫る・知る・操る
3. 学会等名 RIKEN Yokohama SCIENCE CAFE 理研よこはまサイエンスカフェ
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 赤痢アメーバ症治療薬	発明者 和田 章	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-104537	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 Anti-malarial agent	発明者 Akira Wada et al.	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、10292976	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

-

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
---------	---------