

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：32624
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2017～2019
課題番号：17K08345
研究課題名(和文) 渦鞭毛藻ポリケチドをシーズとした新しいタイプの抗感染症薬の開発

研究課題名(英文) Development of new anti-infective drugs from dinoflagellate

研究代表者
久保田 高明 (KUBOTA, Takaaki)

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：60399954
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：渦鞭毛藻および海綿動物を素材として、新たな抗真菌および抗原虫物質の探索を行い、26個の新規天然有機化合物を単離した。構造が明らかになった化合物について生物活性を評価した結果、渦鞭毛藻由来の1個のマクロリドと海綿動物由来の2個のアルカロイドがマウス白血病細胞に対して細胞毒性を、海綿動物由来の1個のアルカロイドが抗マラリア原虫活性を示すことが明らかになった。現在、他の新規化合物および同時に単離した既知化合物について生物活性評価を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新しいタイプの抗感染症薬の開発は急務であり、様々な生物を素材として抗真菌物質や抗原虫物質の探索が行われているが、新たな活性物質の発見は容易ではない状況にある。本研究により、医薬品シーズ探索の素材として十分に研究が行われていない渦鞭毛藻や海綿動物から26個の新規天然有機化合物が得られた。これらの化合物は既存の抗真菌薬や抗原虫薬とは異なる化学構造を有していることから、新たな抗感染症薬のシーズとして期待できる。

研究成果の概要(英文)：The search for new antifungal and antiprotozoal natural products from marine organisms was performed. As a result, twenty-six new natural products were isolated from marine dinoflagellates and sponges, and the structures of six new compounds were elucidated. Among them, one macrolide from dinoflagellates and two alkaloids from a sponge exhibited cytotoxicity against murine leukemia cell line L1210 in vitro. While one alkaloid from a sponge exhibited antimalarial activities against a drug-resistant and a drug-sensitive strains of Plasmodium falciparum. The investigation about antifungal and antiprotozoal activities of other new compounds were currently in progress.

研究分野：天然物化学

キーワード：渦鞭毛藻 海綿動物 天然有機化合物 マクロリド アルカロイド 細胞毒性 抗マラリア 抗感染症薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水虫など感染が体表に限定される真菌症に対し、感染が肺、肝臓、腎臓、脳など体の深部に及ぶ真菌症は、深在性真菌症とよばれる。深在性真菌症は、白血病、悪性リンパ腫、骨髄や臓器移植を受けた患者など、免疫力が低下した患者に高い頻度で発生し、病態や予後を悪化させ死因に大きく関わる重大な脅威である。現在、臨床で使用されている抗真菌薬は4つのタイプ(アゾール系、ポリエン系、フロロピリミジン系、キャンディン系)のみであるため、耐性菌の出現が危惧されており、新しいタイプの抗真菌薬の開発が急務である。

一方、熱帯熱マラリアは、依然としてアフリカを中心とした熱帯地域で猛威をふるっており、2015年の患者数は2億人以上、死者は40万人以上である。また、三日熱マラリアの患者数は温帯地域で増加しており、隣国の韓国の年間患者数は2千人以上である。いずれも、薬剤耐性をもつ原虫の出現が問題であり、新しいタイプの抗マラリア薬の開発が急務となっている。また、吸血性昆虫が媒介してトリパノソーマ原虫が人に伝播されることにより引き起こされる感染症であるトリパノソーマ症のうち、代表的なアフリカ眠り病と中南米のシャーガス病の年間死者は、それぞれ1万人、5万人以上と推定されている。しかし、既存の薬剤の多くは、重篤な副作用を有するため、安全で有効な抗トリパノソーマ薬の開発が急務となっている。これらの原虫感染症は、輸血や地球温暖化により世界的脅威となることが危惧されている。

こうした中、国内外の研究グループにより、様々な生物を素材として新たな抗感染症薬の開発に向けた研究が盛んに行われているが、新たな活性物質の発見は容易ではない状況にある。

2. 研究の目的

研究代表者は、微細藻類の一種である渦鞭毛藻が生産する抗腫瘍性マクロリド・アンフィジノリド類の単離、構造決定を行ってきた。アンフィジノリド類を含め、渦鞭毛藻が生産するポリケチド(渦鞭毛藻ポリケチド)は、植物や菌類などのそれとは異なる新たなポリケチド生合成経路により生産されるため、他の生物種が作ることでできない特異な炭素骨格をもっている。そのため、アンフィジノリド類は既存の薬剤とは作用機序の異なる、新しいタイプの抗がん剤のリード化合物として期待されている。

最近、研究代表者は鎖状の渦鞭毛藻ポリケチド・アンフィジニン類が、深在性真菌症の原因真菌であるアスペルギルス属真菌に抗真菌活性を示すことを見いだした。また、研究代表者が海綿動物を素材として行っている研究から、抗真菌活性を示す天然物とマラリアやトリパノソーマに対して抗原虫活性を示す天然物の間には、構造的な相関があることが示唆されている。したがって、鎖状の渦鞭毛藻ポリケチドが抗原虫活性を示す可能性が期待される。

そこで本研究では、既存の薬剤とは作用機序の異なる新しいタイプの抗感染症薬の開発に向けて、他の生物種では作りだせない特異な炭素骨格のポリケチドを生産するにも関わらず、医薬品シーズ探索の素材としてあまり注目されていない渦鞭毛藻を主な素材として、抗真菌および抗原虫活性を有する新規化合物を獲得する。

3. 研究の方法

(1) 新規化合物の単離、構造決定

沖縄県にて渦鞭毛藻を採集する。

研究代表者が保持している渦鞭毛藻に加え、新たに採集した渦鞭毛藻を、培地を添加した滅菌海水を用いて、明期16時間、暗期8時間の光周期下で培養する。

培養により得られた渦鞭毛藻に含まれる成分を種々の溶媒を用いて抽出する。

渦鞭毛藻が培養液に放出した成分については、ポリマー系の担体に吸着させた後、種々の溶媒を用いて抽出する。

¹H NMR シグナルや MS の分子イオンピークを指標とし、種々の担体を用いたカラムクロマトグラフィーを用いて抽出物の分離を進め、新規化合物を単離する。

渦鞭毛藻に加えて、研究代表者が保持している海綿動物抽出物についても、同様の方法により分離を進め、新規化合物を単離する。

NMR や MS を中心とした分光学的手法により、新規化合物の構造を解析する。

分光学的手法により推定した構造を、有機化学および生合成の観点から検証する。

必要な場合には化学的手法および計算化学を用いて、立体化学を含めて構造を決定する。

(2) 活性評価

新規化合物および同時に得られた既知化合物について、深在性真菌症の原因菌(アスペルギルス、カンジダ、クリプトコッカス)に対する抗真菌活性、マラリア原虫およびトリパノソーマ原虫に対する抗原虫活性を評価する。

顕著な活性を示した化合物について正常細胞に対する毒性試験を行い、上記活性に対する選択性を評価する。

4. 研究成果

(1) 渦鞭毛藻を素材として、新たな抗真菌物質および抗原虫物質の探索を行い、以下の研究成果を得た。

Symbiodinium 属の渦鞭毛藻(2012-7-4S株)から、3個の新規マクロリド・シンピオジノ

ラクトン A、化合物 1 および化合物 2 を単離し、シンピオジノラクトン A の構造を決定した。

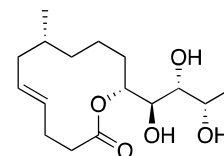
Amphidinium 属の渦鞭毛藻 (2012-7-4A-5D 株) から、2 個の新規マクロリド・化合物 3 および化合物 4 を単離した。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻 (2012-7-4A-5D 株) から、2 個の新規鎖状ポリケチド・化合物 5 および化合物 6 を単離した。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻 (2012-7-4A-6D 株) から、2 個の新規鎖状ポリケチド・化合物 7 および化合物 8 を単離した。

Amphidinium 属の渦鞭毛藻 (2017-14-2-1 株) から、1 個の新規マクロリド・化合物 9 を単離した。

以上の研究成果により得られた 10 個の新規化合物のうち、シンピオジノラクトン A について、深在性真菌症の原因菌 (アスペルギルス、カンジダ、クリプトコッカス) に対する抗真菌活性試験を実施したが活性は認められなかった。しかし、シンピオジノラクトン A はマウス白血病細胞 L1210 に対して細胞毒性を示すことが明らかになった。



シンピオジノラクトン A

現在、本研究により渦鞭毛藻から得られた他の新規化合物の構造決定を進めるとともに、新規化合物および同時に単離した既知化合物について、深在性真菌症の原因菌や、マラリアおよびトリパノソーム原虫に対する活性評価を進めている。

(2) 海綿動物を素材として、新たな抗真菌物質および抗原虫物質の探索を行い、以下の研究成果を得た。

Agelas 属の海綿から、1 個の新規ジテルペンアルカロイド・化合物 10 を単離した。

Amphimedon 属の海綿から、2 個の新規マンザミン関連アルカロイド・化合物 11 および化合物 12 を単離した。

Dysidea 属の海綿から、2 個の新規ポリヒドロキシステロール・化合物 13 および化合物 14 を単離した。

Halichondria 属の海綿から、1 個の新規ステロイド・化合物 15 を単離、構造決定した。

Hippospongia 属の海綿から、2 個の新規メロテルペノイド関連化合物・化合物 16 および化合物 17 を単離した。

Hyrtios 属の海綿から、2 個の新規インドールアルカロイド・イシガジン A および化合物 18 を単離し、イシガジン A の構造を決定した。

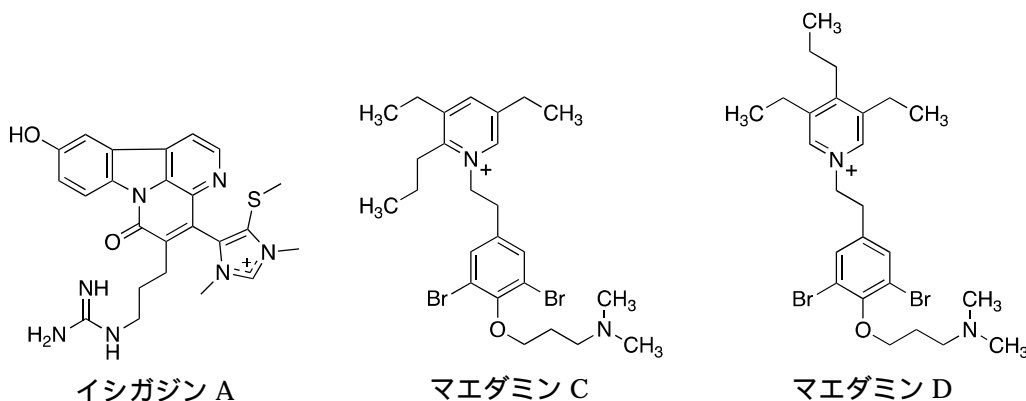
Plakortis 属の海綿から、1 個の新規ポリケチド・化合物 19 を単離した。

Pseudoceratina 属の海綿から、2 個の新規プロモチロシンアルカロイド・セラチナジン E および F を単離し、構造を決定した。

Suberea 属の海綿から、2 個の新規プロモチロシンアルカロイド・マエダミン C および D を単離し、構造を決定した。

Theonella 属の海綿から、1 個の新規ポリケチド・化合物 20 を単離した。

以上の研究成果により得られた 16 個の新規化合物のうち、イシガジン A、マエダミン C および D について、深在性真菌症の原因菌 (アスペルギルス、カンジダ、クリプトコッカス) に対する抗真菌活性試験を実施したが活性は認められなかった。しかし、マエダミン C および D はマウス白血病細胞 L1210 に対して細胞毒性を示すことが明らかになった。



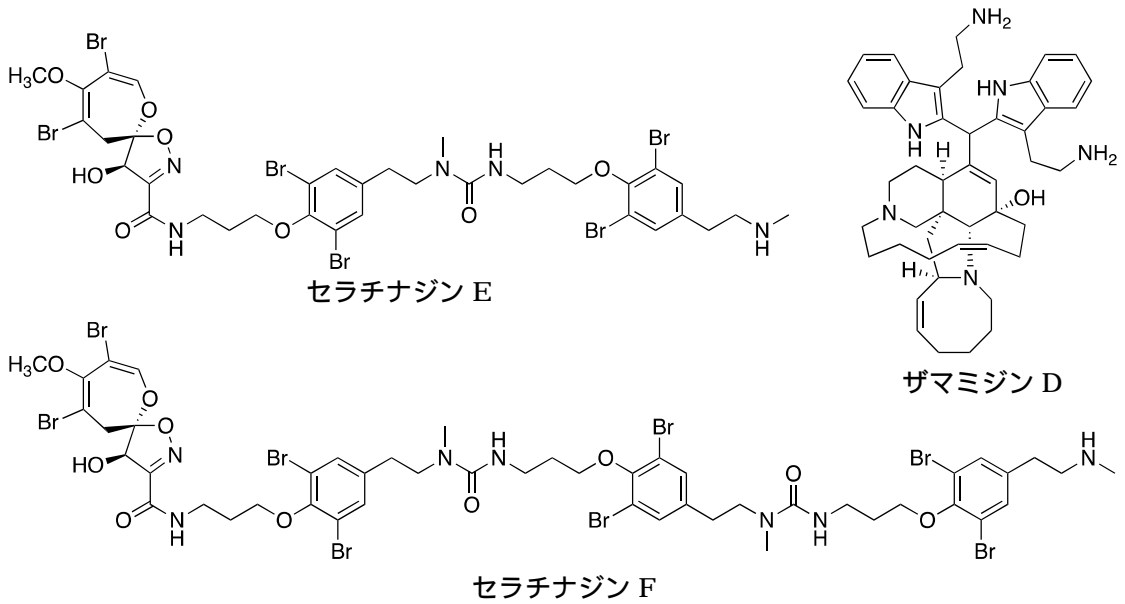
イシガジン A

マエダミン C

マエダミン D

一方、セラチナジン E および F について、マラリア原虫に対する抗原虫活性試験を実施した結果、セラチナジン E は薬剤耐性 K1 株および薬剤感受性 FCR3 株の両方に対して抗原虫活性を示すことが明らかになった。

また、研究代表者が、以前 *Amphimedon* 属の海綿から単離、構造決定したマンザミンアルカロイド・ザマジン D について、マラリア原虫に対する抗原虫活性試験を実施した結果、薬剤耐性 K1 株に対して抗原虫活性を示すことが明らかになった。



現在、本研究により海綿動物から得られた他の新規化合物の構造決定を進めるとともに、新規化合物および同時に単離した既知化合物について、深在性真菌症の原因菌や、マラリアおよびトリパノソーマ原虫に対する活性評価を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kurimoto, S.; Seino, S.; Fromont, J.; Kobayashi, J.; Kubota, T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Ma'edamines C and D, new bromotyrosine alkaloids possessing a unique tetrasubstituted pyridinium moiety from an Okinawan marine sponge <i>Suberea</i> sp.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 8824-8826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b03457	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 該当する
1. 著者名 Kurimoto, S.; Iinuma, Y.; Kobayashi, J.; Kubota, T.	4. 巻 59
2. 論文標題 Symbiodinolactone A, a new 12-membered macrolide from symbiotic marine dinoflagellate <i>Symbiodinium</i> sp.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron Lett.	6. 最初と最後の頁 4496 ~ 4499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2018.11.018	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 Takahashi, H.; Kurimoto, S.; Kobayashi, J.; Kubota, T.	4. 巻 59
2. 論文標題 Ishigadine A, a new canthin-6-one alkaloid from an Okinawan marine sponge <i>Hyrtios</i> sp.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron Lett.	6. 最初と最後の頁 4500 ~ 4502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2018.11.019	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 Kurimoto, S.; Ohno, T.; Hokari, R.; Ishiyama, A.; Iwatsuki, M.; Omura, S.; Kobayashi, J.; Kubota, T.	4. 巻 16
2. 論文標題 Ceratinadins E and F, new bromotyrosine alkaloids from an Okinawan marine sponge <i>Pseudoceratina</i> sp.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mar. Drugs	6. 最初と最後の頁 463 ~ 463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md16120463	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 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 栗本慎一郎、鈴木祥一、上野真由美、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Amphimedon属海綿から単離した新規マンザミン関連アルカロイドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森光希、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Halichondria属海綿から単離した新規ステロイドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島田祐莉奈、小川実華、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 構造活性相関研究に向けたセスキテルペノイドキノン誘導体の調製
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤和幸、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Agelas属海綿から単離した新規ジテルペンアルカロイドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 猪俣実加、小川実華、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Spongiidae科海綿から単離したセスキテルペノイドキノンの構造
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 沖縄産Suberea属海綿から単離した新規プロモチロシナルカロイドの構造
2. 発表標題 清野暁月、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渦鞭毛藻Amphidinium sp.から単離した新規ポリケチドの構造
2. 発表標題 坂根美和子、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沖縄産Plakortis属海綿から単離した新規ポリケチドの構造
2. 発表標題 木村悠登、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沖縄産Stylissa属海綿から単離した新規環状ペプチドの構造
2. 発表標題 大山英将、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石田理紗、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 渦鞭毛藻Symbiodinium sp.から単離した新規マクロリドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋秀彰、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Hyrtios属海綿から単離した新規 - カルボリンアルカロイドの構造
3. 学会等名 第22回天然薬物の開発と応用シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋秀彰、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Hyrtios属海綿から単離した新規Canthin-6-oneアルカロイドの構造
3. 学会等名 日本生薬学会第65回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武田郁恵、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Dysidea属海綿から単離した新規ポリヒドロキシステロールの構造
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋秀彰、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Hyrtilios属海綿から単離した新規インドールアルカロイドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大野泰斗、栗本慎一郎、小林淳一、久保田高明
2. 発表標題 沖縄産Pseudoceratina属海綿から単離した新規プロモチロシナルカロイドの構造
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 久保田高明、栗本慎一郎、上條優樹、中村健太、酒井香奈江、高橋梓、穂苅玲、石山亜紀、岩月正人、乙黒一彦、五ノ井透、大村智、小林淳一
2. 発表標題 Amphimedon属海綿から単離した新規マンザミンアルカロイドZamamiphidin AおよびZamamidine D
3. 学会等名 第59回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takaaki Kubota, Shin-ichiro Kurimoto, Kenta Nakamura, Kanae Sakai, Rei Hokari, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Kazuhiko Ootoguro, Tohru Gonoi, Satoshi Omura, Jun'ichi Kobayashi
2. 発表標題 Zamamidine D, a new manzamine alkaloid from an Okinawan marine sponge Amphimedon sp.
3. 学会等名 America Society of Pharmacognosy 2017 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kubota, T.; Kurimoto, S.; Kobayashi, J.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 124
3. 書名 The Alkaloids: Chemistry and Biology (Vol. 84, Chapter One: The manzamine alkaloids)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>昭和薬科大学 天然物化学研究室 http://www.shoyaku.ac.jp/research/laboratory/tennen 昭和薬科大学 天然物化学研究室 研究室サイト http://www.shoyaku.ac.jp/research/laboratory/tennen/top</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
---------	---------------------------	-----------------------	----