2版

様　式　Ｆ－１９－２

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　　４ 年　　６ 月 ２８ 日現在

機関番号：２４４０２
研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A)）
研究期間：2019～2021
課題番号：１８KK０４５４
研究課題名（和文）慢性期アフリカトリパノソーマ症に対する治療薬開発と分子マーカー探索

研究課題名（英文）Drug-diagnostic co-development in Tropical Medicine, combating Human African Trypanosomiasis

研究代表者
城戸　康年（Kido, Yasutoshi）

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：９０５１１３９５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　12,000,000円
渡航期間：　　３ヶ月

研究成果の概要（和文）：人類が制圧すべき感染症の1つであるヒトアフリカトリパノソーマ症のヒト慢性期疾患を模倣した動物モデルを確立することに成功した。アスコフラノンおよびその誘導体による治療実験では、臨床分離株を用いた慢性期においてもAFが有効だった。さらに、これまでグリセロール併用によるAFの増感が知られていたが、グリセロールが原虫エネルギー代謝を変化させることで感受性が高まったことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
人類が制圧すべき感染症の1つであるヒトアフリカトリパノソーマ症のヒト慢性期疾患に対する新規医薬品候補を見出した。本研究は、流行地である海外でのみ実施可能な研究であり、新規医薬品候補の報告は、今後の感染症対策にとって重要な一歩となる。また、本研究の遂行には、日本とコンゴ民主共和国の両国の若手研究者が多く従事した。感染流行に即応できる研究者育成にも貢献することとなった。

研究成果の概要（英文）：We have succeeded in establishing an animal model that mimics the human chronic phase of human African trypanosomiasis, which is one of the Neglected Tropical Diseases that human beings should control. In therapeutic experiments with Ascofuranone and its derivatives, AF was effective even in the chronic model using clinical isolates. Furthermore, it has been known that AF is sensitized in the presence of glycerol, clarifying that glycerol increased the sensitivity by changing protozoan energy metabolism.

研究分野：寄生虫学

キーワード：トリパノソーマ症　顧みられない熱帯病

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｆ－１９－２

１．研究開始当初の背景

アフリカトリパノソーマ症は寄生性原虫 *Trypanosoma brucei* を病原体とする人獣共通感染症であり､ヒトに生じるアフリカ睡眠病(Human African Trypanosomiasis; HAT)は致死性疾患である。HAT は、WHO が人類の中で制圧しなければならない熱帯病と定義する顧みられない熱帯病(Neglected Tropical Diseases; NTDs)の代表例であるが、現在の治療薬は有効性・安全性ともに不十分であり、撲滅へ向けた新規薬剤開発が世界的に注目されている。

研究代表者らは、*T. brucei* が宿主の環境に適応するための特殊なエネルギー代謝系の解析をすすめてきた。ミトコンドリア内膜に存在する<u>末端酸化酵素 Trypanosome alternative oxidase (TAO)</u>が、原虫の生存に必須であり、宿主である哺乳類には存在しないため、格好の薬剤標的と考え、0.1 nM で TAO を阻害する<u>アスコフラノン(図 1, AF)</u>という糸状菌の 2 次代謝産物を報告してきた。つまり、ほ乳類には存在しなく病原体に特異的な呼吸を阻害して、「*T. brucei* の息の根を止める」戦略を提唱し、これまでに以下の 3 点を明らかにしてきた。

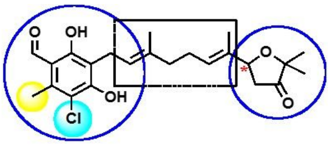


図1 アスコフラノン(AF)

◆　**薬剤標的である TAO の AF による阻害機構の解析**

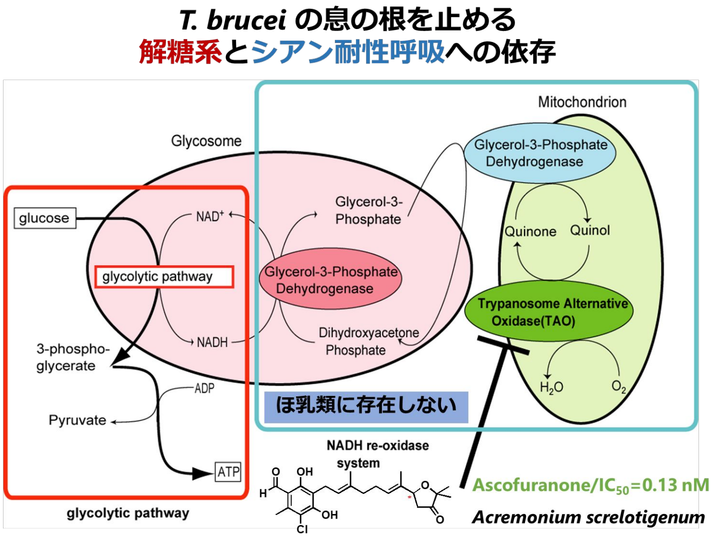
<u>TAO の三次元構造解析に成功</u>し、AF と TAO の相互作用を分子レベルで明らかとした。(Shiba T*, <u>Kido Y*</u>, et al. (* equally contribution) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013)

◆　**アスコフラノン誘導体を用いた構造活性相関研究**

200 以上の AF 誘導体を用いて、酵素レベル、原虫レベルで薬効を確認し、<u>薬理学的活性中心を明らか</u>にした(Saimoto H, <u>Kido Y*</u>, et al. (*corresponding author) *J Biochem.* 2013)

◆　**感染動物の治療効果**

AF は、<u>***T. brucei* 感染マウスを完治**</u>させる。



２．研究の目的

HAT は血流のみに感染が限局している急性期と、数カ月から数年の経過で中枢神経へ進展する慢性期の 2 病期に大別されるが、ヒト慢性期の起因原虫は *T. brucei gambiense* という亜種である。しかし、家畜伝染病予防法の規制により日本で入手できる *T. b. gambiense* は限られ、マウスへの感受性が悪く、他の動物種を用いた実験も不可能である。

本研究では、流行国でのみ実施可能な慢性期の病態解析に基づいた分子マーカー・診断法の開発および新規治療薬による慢性期治療概念実証を目的とする。

３．研究の方法

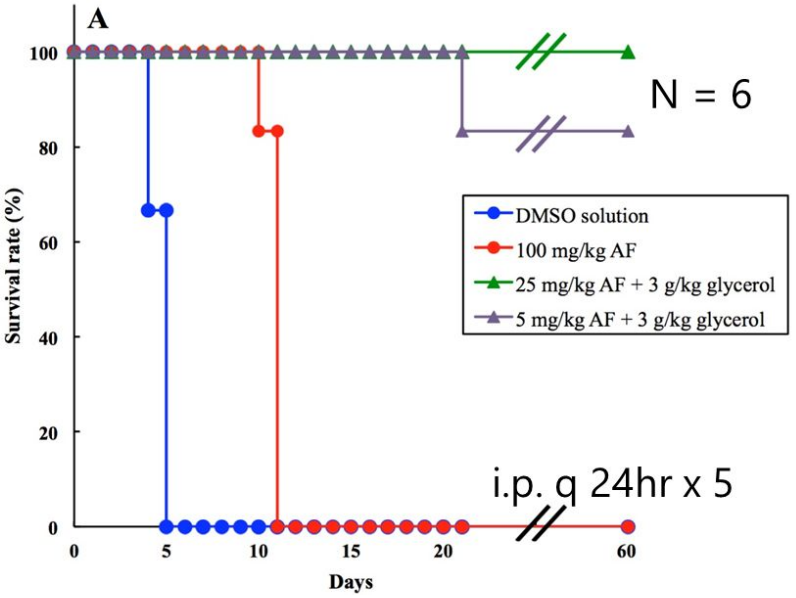
本国際共同研究では、*T. b. gambiense* に感受性が高い *Mastomys natalensis* (African rat と総称されるサブ・サハラの固有種であり実験動物として供される) を用いた慢性期モデルを用いて、慢性期の病態解析および AF/AF 誘導体を用いた慢性期治療実験を実施する。

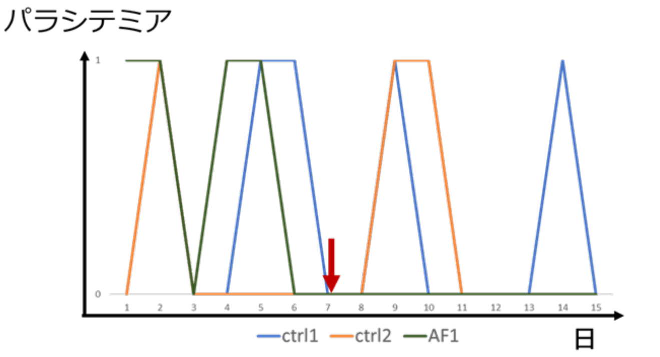
４．研究成果

問題となっているヒト慢性期への有効性を評価するため、本国際共同研究では、Mastomys natalensis (African rat)を用いた慢性期モデルを用いて、慢性期の病態解析および AF 誘導体を用いた慢性期治療実験およびヒト臨床検体を用いてヒト慢性期の分子マーカー探索を実施した。効率よく慢性期の病態が完成し、数日ごとに末梢血中のトリパノソーマ原虫が出現と消失を繰り返し、中枢神経へ病原体が浸潤することが確認できた。これはヒトの慢性期における病態と極めて類似しており、この感染実験系は良好な慢性期病態モデルとなった。

ヒト慢性期疾患を模倣した動物モデルを確立することに成功し、AF およびその誘導体を用いて、慢性期モデルでも治療可能かどうかを検証したところ、急性期モデルでの効果と同等の効果が得られることが示唆された(下図)。AF による治療実験では、臨床分離株を用いた慢性期においても AF が有効であることを証明することができた。さらに、これまでグリセロール併用による AF の増感が知られていたが、グリセロールが原虫エネルギー代謝を変化させることで感受性が高まったことが明らかとなった。

本研究の遂行には、日本とコンゴ民主共和国の両国の若手研究者が多く従事した。実際の感染症患者から分離した病原体を用いて、現地の実験動物に感染させ病態評価を行うことは、感染流行に即応できる研究者育成には非常に重要な経験となった。





Chronic African rat model

T. brucei gambiense **clinical strains**

・流行国コンゴ民主共和国での検証
・臨床分離株を使用した慢性期モデルでの薬効

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計11件（うち査読付論文　11件／うち国際共著　6件／うちオープンアクセス　4件）

１．著者名 Matsubayashi Makoto、Teramoto Isao、Urakami Itsuo、Naohara Jun、Sasai Kazumi、Kido Yasutoshi、Kaneko Akira	４．巻 88
２．論文標題 Evaluation of Cryptosporidium parvum oocyst inactivation following exposure to ultraviolet light-emitting diodes by in vitro excystation and dye staining assays	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Parasitology International	６．最初と最後の頁 102557～102557
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2022.102557	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 Nakagama Shun、Candray Katherine、Yamamoto Tasuku、Tsugeno Yuta、Nakagama Yu、Kido Yasutoshi、Nitahara Yuko、Maejima Yasuhiro、Sasano Tetsuo	４．巻 9
２．論文標題 Inflammatory cardiomyopathy of possibly overlapping aetiology: a case posing treatment dilemma and potential association	５．発行年 2021年
３．雑誌名 ESC Heart Failure	６．最初と最後の頁 761～765
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ehf2.13771	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 Tshibangu-Kabamba Evariste、Phuc Bui Hoang、Tuan Vo Phuoc、Kayiba Nadine Kalenda、Rosas-Aguirre Angel、Devleesschauwer Brecht、Cimuanga-Mukanya Alain、Ngoma Kisoko Patrick de Jsus、Disashi Ghislain Tumba、Mumba Ngoyi Dieudonn、Kido Yasutoshi、Speybroeck Niko、Yamaoka Yoshio	４．巻 15
２．論文標題 Assessment of the diagnostic accuracy and relevance of a novel ELISA system developed for seroepidemiologic surveys of Helicobacter pylori infection in African settings	５．発行年 2021年
３．雑誌名 PLOS Neglected Tropical Diseases	６．最初と最後の頁 xx
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pntd.0009763	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 Acharjee Rajib、Talaam Keith、Hartuti Endah、Matsuo Yuichi、Sakura Takaya、Gloria Bundutidi、Hidano Shinya、Kido Yasutoshi、Mori Mihoko、Shiomi Kazuro、Sekijima Masakazu、Nozaki Tomoyoshi、Umeda Kousuke、Nishikawa Yoshifumi、Hamano Shinjiro、Kita Kiyoshi、Inaoka Daniel	４．巻 22
２．論文標題 Biochemical Studies of Mitochondrial Malate: Quinone Oxidoreductase from Toxoplasma gondii	５．発行年 2021年
３．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	６．最初と最後の頁 7830～7830
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22157830	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 Shinjyo Noriko、Hikosaka Kenji、Kido Yasutoshi、Yoshida Hiroki、Norose Kazumi	４．巻 11
２．論文標題 Toxoplasma Infection Induces Sustained Up-Regulation of Complement Factor B and C5a Receptor in the Mouse Brain via Microglial Activation: Implication for the Alternative Complement Pathway Activation and Anaphylatoxin Signaling in Cerebral Toxoplasmosis	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Frontiers in Immunology	６．最初と最後の頁 xx
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.603924	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 －

１．著者名 Okamura Kenichi、Nakagama Yu、Takeda Norihiko、Soma Katsura、Sato Tatsuyuki、Isagawa Takayuki、Kido Yasutoshi、Sakamoto Masaya、Manabe Ichiro、Hirata Yasutaka、Komuro Issei、Ono Minoru	４．巻 141
２．論文標題 Therapeutic targeting of mitochondrial ROS ameliorates murine model of volume overload cardiomyopathy	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	６．最初と最後の頁 56～63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2019.09.005	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 Karin、Matsubayashi Makoto、Ohashi Yukio、Naohara Jun、Urakami Itsuo、Sasai Kazumi、Kido Yasutoshi、Kaneko Akira、Teramoto Isao	４．巻 77
２．論文標題 Efficacy of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LED) at four different peak wavelengths against Cryptosporidium parvum oocysts by inactivation assay using immunodeficient mice	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Parasitology International	６．最初と最後の頁 102108～102108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2020.102108	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 Doohan D, Miftahussurur M, Matsuo Y, Kido Y, Akada J, Matsuhisa T, Yee TT, Htet K, Aftab H, Vilaichone RK, Mahachai V, Ratanachu-Ek T, Tshering L, Waskito LA, Fauzia KA, Uchida T, Syam AF, Rezkitha YAA, Yamaoka Y	４．巻 209(1)
２．論文標題 Characterization of a novel Helicobacter pylori East Asian-type CagA ELISA for detecting patients infected with various cagA genotypes	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Med Microbiol Immunol	６．最初と最後の頁 29-40
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 Balogun Emmanuel Oluwadare、Inaoka Daniel Ken、Shiba Tomoo、Tsuge Chiaki、May Benjamin、Sato Tomohiro、Kido Yasutoshi、Nara Takeshi、Aoki Takashi、Honma Teruki、Tanaka Akiko、Inoue Masayuki、Matsuoka Shigeru、Michels Paul A. M.、Watanabe Yoh‐Ichi、Moore Anthony L.、Harada Shigeharu、Kita Kiyoshi	4．巻 33
2．論文標題 Discovery of trypanocidal coumarins with dual inhibition of both the glycerol kinase and alternative oxidase of Trypanosoma brucei brucei	5．発行年 2019年
3．雑誌名 The FASEB Journal	6．最初と最後の頁 13002～13013
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201901342R	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 Araki Yasuko、Awakawa Takayoshi、Matsuzaki Motomichi、Cho Rihe、Matsuda Yudai、Hoshino Shotaro、Shinohara Yasutomo、Yamamoto Masaichi、Kido Yasutoshi、Inaoka Daniel Ken、Nagamune Kisaburo、Ito Kotaro、Abe Ikuro、Kita Kiyoshi	4．巻 116
2．論文標題 Complete biosynthetic pathways of ascofuranone and ascochlorin inAcremonium egyptiacum	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6．最初と最後の頁 8269～8274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1819254116	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 Shiba Tomoo、Inaoka Daniel Ken、Takahashi Gen、Tsuge Chiaki、Kido Yasutoshi、Young Luke、Ueda Satoshi、Balogun Emmanuel Oluwadare、Nara Takeshi、Honma Teruki、Tanaka Akiko、Inoue Masayuki、Saimoto Hiroyuki、Harada Shigeharu、Moore Anthony L.、Kita Kiyoshi	4．巻 1860
2．論文標題 Insights into the ubiquinol/dioxygen binding and proton relay pathways of the alternative oxidase	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6．最初と最後の頁 375～382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbabio.2019.03.008	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

〔学会発表〕　計5件（うち招待講演　1件／うち国際学会　0件）

1．発表者名 加来 奈津子，中釜 悠，仁田原 裕子，道向 優，稲岡 健ダニエル，山本 雅一，斎本 博之，上村 尚人，金子 明，北 潔，城戸 康年
2．発表標題 シアン耐性呼吸を標的とした抗トリパノソーマ症薬の早期臨床開発計画
3．学会等名 日本寄生虫学会・日本臨床寄生虫学会合同大会
4．発表年 2021年

１．発表者名
城戸 康年，中釜 悠，上村 尚人，Mumba Dieudonne，Muyembe Jean-Jacques

２．発表標題
アカデミア創薬:独創的な創薬研究者達の挑戦　コンゴ民主共和国拠点での新興・再興感染症創薬

３．学会等名
臨床薬理学会総会（招待講演）

４．発表年
2020年

１．発表者名
中釜 悠，伊藤 正道，仁田原 裕子，Candray Katherine，Rodriguez Stanley，武田 憲彦，嶋田 淳子，金子 明，城戸 康年

２．発表標題
シャーガス慢性心筋炎の病態形成機構

３．学会等名
日本小児循環器学会

４．発表年
2020年

１．発表者名
城戸 康年，中釜 悠，仁田原 裕子，北 潔，Mumba Dieudonne，Muyembe JeanJacques，金子 明，上村 尚人

２．発表標題
グローバルヘルス課題克服にむけたコンゴ民主共和国におけるトランスレーショナルリサーチ拠点の形成

３．学会等名
臨床薬理学会総会

４．発表年
2019年

１．発表者名
中釜 悠，城戸 康年，仁田原 裕子，中谷 大作，北 潔，上村 尚人

２．発表標題
アフリカトリパノソーマ症治療薬開発に向けた、First in Human試験の立案・実施への取り組み

３．学会等名
臨床薬理学会総会

４．発表年
2019年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ムンバ　デュドンヌ (Mumba Dieudonne)	国立生物医学研究所・Parasitology・Professor	

	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
その他の研究協力者	中釜　悠 (Nakagama Yu) (60846880)	大阪市立大学・医学研究科・特任講師 (24402)	
その他の研究協力者	加来　奈津子 (Kaku Natsuko) (10899355)	大阪市立大学・医学研究科・特任助教 (24402)	

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			
コンゴ民主共和国	Institut Nacional Recherche Biomedicale			