

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 10 月 9 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560453

研究課題名(和文)細胞内の金属濃度変化に着目した新たな感染症治療薬の創出

研究課題名(英文)Development of anti-infective agents focusing on intracellular changes in metal concentration

研究代表者

和田 章(Wada, Akira)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、赤血球に感染したマラリア原虫の増殖と金属イオンの関係性に着目し、金属イオンに相互作用する新たな分子リガンドを探索した。その結果、マラリア原虫の増殖を抑制する特殊な分子リガンドを発見した。そして、その分子リガンドは、既存のマラリア治療薬であるクロロキンに耐性のあるマラリア原虫に対しても増殖抑制効果を発揮することを明らかにした。さらに、細胞レベル及び動物レベルでの多角的な評価により、新たなマラリア治療薬候補としての有用な特徴を見出している。

研究成果の概要(英文)：In this research, focusing on intracellular changes in metal concentration, we have tried to explore molecular ligands that could interact with metal ions used for the growth of malaria. In the result, specific molecular ligands, which could suppress the growth of chloroquine-resistant malaria parasite, have been discovered. Furthermore, on the basis of various biological assessments of the molecular ligands, we have found useful characteristics as a candidate of anti-malarial drug.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：感染症治療薬 マラリア原虫

1. 研究開始当初の背景

ハマダラカが媒介するマラリア感染症は、地球温暖化および交通手段などの発達により、熱帯地域から温帯地域へと感染範囲を拡大しつつあり、現在では世界 100 カ国以上での感染が確認されている。そして、年間、約 2.1 億人が感染し、毎年約 43 万人以上が亡くなっていると推算されている (World Health Organization : WHO)。また、マラリア感染症の主要な治療薬として、アルテミシニンやクロロキン誘導体などが利用されているものの、ヒト免疫不全ウイルス (Human Immunodeficiency Virus : HIV) や結核などに代表される感染症治療薬に比べて種類が少ないだけでなく、既存の治療薬に抵抗する薬剤耐性マラリア原虫が熱帯地域を起点に世界各地で発生している。そのため、これまでの治療薬とは全く異なる作用機序で薬理効果を発揮する革新的なマラリア治療薬の開発が期待されている。

一方、様々な細胞活動を司る微量金属元素の存在とそれらの生理学的役割を理解しようとする学術分野「メタロミクス」が提唱されている。そこで、この概念をマラリア原虫の生活環にまで拡張してみると、赤血球内の限られた栄養分と微量金属元素を最大限に活用するマラリア特有の生命システムの存在が推察できる。事実、マラリア原虫に感染した赤血球内の金属イオンの濃度は、正常な赤血球内と比べて顕著に変動することが報告されており (*Chem. Biol.*, 2012, 19, 731., etc.)、マラリア原虫の増殖に必要な金属イオンが積極的に収集・利用されていることが考えられる。

そこで、本研究課題では、これまでに研究代表者が従事してきた「金属酵素活性中心の機能と構造を再現もしくは解明する金属錯体研究 (*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52, 12293., etc.)」で獲得した知見を活かし、マラリア原虫の増殖に関する金属イオンと相互作用する分子リガンドを収集・合成することを計画した。そして、マラリア原虫の増殖を抑制する新たな分子リガンドの探索とそれらの物理化学的性質を同定すると共に、マラリア感染赤血球における作用機序の解析、薬理効果の評価などを実施することで、赤血球内の金属イオンの濃度に着目したマラリア増殖阻害活性の発現とその有用性を多角的に検証し、新たなマラリア治療薬候補としての可能性を見出すことを目標にして取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究課題では、マラリア原虫に感染した赤血球内の金属イオン濃度の変化に着目し、これまでに培ってきた生物無機化学的研究に基づき分子リガンドの集団を収集・合成する。そして、その中から、マラリア原虫の増殖に関する金属イオンと相互作用する特殊な分子リガンドを探索・同定する。さらに、それら分子リガンドのマラリア感染赤血球内における作用機序の基礎解析を皮切りに、マラリア感染マウスに対する投与および延命効果などの多角的な評価へと展開することで、独自の分子メカニズムによりマラリア原虫の増殖抑制効果を発揮する新たな治療薬候補としての可能性を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究課題では、これまで研究代表者が獲得してきた生物無機化学的知見を発展させることで、細胞内の金属イオンに対して親和的に相互作用する分子リガンドを独自に収集・合成した。そして、その中から、赤血球に感染した熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) に由来する乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase : LDH) の酵素活性を指標とし、マラリア原虫の増殖活動を阻害する新たな分子リガンドの探索を実施した。さらに、ここで見出したマラリア増殖阻害活性を有する分子リガンドに焦点を絞り、それらに特徴的な分光学的・構造学的性質を同定した。また、赤血球レベルでの金属イオンとの相互作用及びそれに関連した作用機序の基礎解析、ヒト/マウス由来の各種哺乳類細胞に対する細胞毒性の評価、マラリア感染マウスへの投与と延命効果など、生物医学的な評価にも取り組んだ。

4. 研究成果

本研究課題では、小規模ではあったが、乳酸脱水素酵素 LDH の酵素活性を指標にしたスクリーニングを実施したところ、熱帯熱マラリア原虫 (3D7 株) に対して顕著な増殖阻害活性を発現する数種類の分子リガンドを新たに見出すことに成功した。そして、既存の治療薬であるクロロキンに耐性を示すマラリア原虫 (K1 株) だけでなく、多剤耐性マラリア原虫 (Dd2 株) に対しても同濃度領域で増殖を抑制できることも明らかにした。さらに、ヒトもしくはマウスに由来する各種哺乳類細胞 (HeLa, HL60, HEK293, C3H10T1/2, etc.) に対する細胞毒性の評価を実施したところ、

数 μM 以上でしか細胞毒性を示さないことが明らかとなり、これら分子リガンドが示したマラリア原虫に対する増殖阻害活性の高い特異性を確認した。一方、致死性ネズミマラリア原虫 (ANKA 株) を感染させたマウスに対して腹腔内投与を実施したところ、血液中のマラリア原虫の増殖を有意に抑制する効果があることを確認すると共に、体重変化の追跡、生存個体の観察、生死判定などから、既存の治療薬であるクロロキンに匹敵する薬理効果をもたらすことが明らかとなった。つまり、今回見出した分子リガンドは、細胞レベル及び動物レベルにおいてマラリア原虫の増殖を抑制できることが示唆された。

一方、本研究期間中において、研究代表者の研究実施場所などの変更があり、本研究課題の遂行に必要な新たな実験基盤の整備などに従事する必要性が生じたが、これまでに得られた研究成果の一部は、生命科学系の学会及び研究会、企業や一般学生を対象にした講演会などにて発表することができた。そして、既存の薬剤とは全く異なる薬理作用を發揮する新たなマラリア治療薬候補の必要性とその開発意義などについても議論することができた。

今後の展開としては、本研究課題の遂行により獲得した研究成果を基盤とし、抗マラリア活性を發揮する分子リガンドの更なる構造展開及びマラリア原虫に対する増殖抑制効果の高度化戦略の創出に取り組む計画である。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 5 件)

和田 章

“バイオメタルケミストリー” の新展開：
金属酵素の試験管内モデルから金属元素
の生体内制御まで

第 87 回 日本寄生虫学会大会：
第 30 回 分子生物学・生理生化学研究会
2018 年 3 月 16 日
国立国際医療研究センター (東京都)

Akira Wada, Makoto Kawatani, Yushi
Futamura, Makoto Muroi, Harumi Aono,
Nobumoto Watanabe, and Hiroyuki Osada
Development of anti-malaria compounds
that interact with intracellular metal
ions
Consortium of Biological Sciences 2017

2017 年 12 月 6 日
Kobe Port Island (Hyogo, Japan)

和田 章

生体内の微量元素の制御に着目した
新規薬剤開発
第 24 回 理研イブニングセミナー
2017 年 5 月 10 日
COREDO 日本橋 三井ビルディング 15F
(東京都)

和田 章

生命分子を人工的に創る・活かすケミカル
バイオロジー
理研よこはまサイエンスカフェ 2016
2016 年 12 月 16 日
浅野学園 浅野中学・高等学校 (神奈川)

和田 章

特殊化合物ライブラリーの独自構築による
新規マラリア治療薬の創出
“Discovery of new therapeutic agents
for malaria from uniquely-constructed
compound library”
DSANJ 疾患別商談会
(Drug Seeds Alliance Network Japan Biz
Meeting)
2015 年 1 月 29 日
大阪産業創造館 (大阪)

[産業財産権]

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
和田 章 (WADA, Akira)
国立研究開発法人理化学研究所・ライフ
サイエンス技術基盤研究センター・
専任研究員
研究者番号：90443051
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし