

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16397

研究課題名(和文) 昆虫試験系活用による媒介者対策を軸とした遊牧民伝承植物からの感染症制圧シーズ発掘

研究課題名(英文) Investigation of compounds for controlling infectious diseases from nomadic traditional useful plants guided by insect assay systems oriented to vectors

研究代表者

村田 敏拓 (MURATA, Toshihiro)

東北医科薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：70458214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：人獣共通感染症は新興・再興感染症として時に突発的な流行を引き起こし世界的な脅威である。家畜と深い関係にあるモンゴル国植物から、原虫やウイルスなどの病原体やマダニなど媒介者の対策に使用できる化合物を見出すために成分薬効解析を行った。結果として、*Artemisia sieversiana*から抗トリパノソーム活性成分などを単離・構造決定するなど、合計5報の論文で成果を報告した。また媒介者対策として、モンゴル国協力者のもと病原体を媒介するマダニを現地で確保し、日本ではアブラムシをモデルに昆虫自然免疫系や神経系を標的にした研究を進めた。本課題は2021年度より21H02638にて発展的に継続実施する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

モンゴル国植物を対象に、どのような効果や特性を持つ化合物が各植物に含まれているか？をまず明らかにするために、新規物質を含む多様な化合物を探索し、その化学構造を決定した。この成分化学的な知見は、薬学・医学・植物学的な分野をはじめ、次の段階の応用研究を進めるにあたり、その研究材料となる化合物を提案できる点で極めて重要である。更に、日本国内研究機関やモンゴル国研究機関の協力のもと、本課題で得た化合物について、実際に現地で問題となっている原虫・ウイルス等の病原体や、その媒介者となるマダニ等へ及ぼす影響を直接調べることができた。構造活性相関の検討を行い、医薬シーズを見出す上で重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Zoonotic diseases are emerging and re-emerging infectious diseases that sometimes cause sudden epidemics and are a global threat. In order to find compounds from Mongolian plants that can be used to combat pathogens such as protozoa and viruses, as well as vectors such as ticks, we conducted chemical and biological analyses. The results in this project had been reported in a total of 5 papers. As an example, we isolated and determined the chemical structures of flavonoids with trypanocidal activity from *Artemisia sieversiana*. As a vector control, we secured ticks that transmit the pathogen locally with the cooperation of Mongolia, and in Japan, we researched targeting the insect's innate immune system and nervous system using aphids as a model. This project will be continued in 21H02638 from FY2021.

研究分野：生薬学・天然物化学

キーワード：モンゴル国 薬用植物 成分薬効解析 人畜共通感染症 病原性原虫 媒介者 昆虫試験系 マダニ

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。

1. 研究開始当初の背景

国際的な脅威となる新興・再興感染症は人畜近接地域の感染源動物と媒介者が鍵を握る。

人畜共通感染症は主に原虫・細菌・ウイルスを病原体に家畜動物や野生動物・愛玩動物からヒトへと伝染し、ヒト感染症全てのうち半数以上を占めるとされる。咬傷から直接感染する狂犬病、マダニや蚊といった媒介者により伝播されるダニ媒介脳炎や日本脳炎、感染動物から排出された芽胞が土壌を汚染しそれが感染源となる炭疽、乳製品から感染するブルセラ症などが致死率も高く広く知られている。加えて 10 億人が感染し、年間 50 万人が死亡する顧みられない熱帯病 (NTD) の多くはシャーガス病のサシガメを一例に媒介者が介する伝染病である。上記は決して貧困地域に限った問題ではなく、実際に近年も薬剤耐性株の出現による再興感染症が世界規模で次々と発生し、日本でもマダニが介する日本紅斑熱や重症熱性血小板減少症候群といった新興感染症の発生が認められる。また鳥インフルエンザや SARS の例が示す通り、一地域での発生から世界規模での流行に広がる恐れがある。ゆえに発生の可能性が高い地域での感染源となり得る動物のケアや貧困地域での環境要因除去を含めた包括的な対策が極めて重要であり、医薬獣医農など各分野の連携が強く期待されている (厚生労働省、ヒトと動物の共通感染症、2018 年)。また有効な治療法やワクチンが流行当初は無いために、特に実効的な感染予防法の確立が不可欠である。

感染症の予防と制圧には「病原体対策」はもちろん、「マダニなどの媒介者対策」と「家畜動物の健全状態の維持」が極めて有効と考えられる。病原体を標的とした抗原虫・抗菌活性天然物の探索は継続的に世界規模で行われており、抗マラリア薬のキニーネやアルテミシニンに始まり高い効果を上げる化合物が見いだされてきた。しかしマダニや媒介昆虫は従来の薬剤への耐性化が進み新規薬剤への需要が高い一方で、生活環が複雑ゆえに継代飼育や管理が困難であり研究例は未だ少ない。申請者は後述する JICA 事業でモンゴル国の問題をテーマに研究を展開しており、現地で実害を及ぼすマダニ類に対する試験を実施できる体制にある。同国では家畜と近接する故にペストや炭疽菌感染が散見され、マダニが媒介する家畜ピロプラズマ症が深刻な経済的損失を与えている。これら問題を背景に遊牧民は自生植物を利用した特徴的な感染症対策や家畜動物と牧草との関係を熟知している。これは家畜とヒトを取り巻く生態系の理解を通して、効果的に感染症を予防し対策を実現するための極めて貴重なヒントを与える。

2. 研究の目的

モンゴル国立大学やモンゴル国立獣医学研究所の研究者との協力関係から、感染症や媒介者対策・家畜の健康維持に利用される植物の、徹底成分・生物活性解析を基盤に (1) 抗原虫・抗菌活性化合物、(2) 現地で問題となるマダニに殺虫・忌避作用を示す化合物、(3) 家畜の体力維持に寄与する成分や避けるべき毒性化合物、を見出すことを目的とする。

得た活性化合物の知見を適所に応用して原虫病や人畜共通感染症の予防と制圧を図り、病原体媒介者と感染源動物をターゲットにしたユニークな感染症対策を提案する。

また、簡易的に実施でき、かつ実際の媒介者防除試験に効果的につなげる昆虫試験系を構築する。日本で現地のマダニを管理することは困難である。そこで病原体媒介ダニ・昆虫対策用の代替実験モデルとして日本で扱える昆虫 (主にアブラムシ) を使う。現地でのマダニ試験を想定して、(4) 各植物成分の殺虫活性や忌避作用を評価し、更にその作用機序を解析するため、(5) 活性化合物が自然免疫系・神経系・細胞のいずれに影響するかを調べる。これによりマダニ実験に向けて対象化合物を絞ることができ、また昆虫-マダニ間の共通項の検討から作用機序を国内で解析できる。以上により簡易かつ実効的な実験モデルが確立できれば、対策困難な原虫病や人畜共通感染症に対して媒介者を標的にした研究が飛躍的に進歩する。

3. 研究の方法

(1) 生物活性スクリーニングの結果より選んだ植物から鍵化合物を単離・構造決定する。植物成分の単離には HPLC をはじめとする各種クロマトグラフィーなど分離技術を駆使する。化学構造の決定は NMR や MS をはじめ、各種分光分析機器データや x 線結晶構造解析を利用する。

具体例を挙げると、熱病や人畜共通感染症の炭疽に利用される (モンゴル国有用植物図鑑) マメ科 *Oxytropis* 属植物から特有のアルカロイドを得る。手順は *O. lanata* から抗原虫活性オキサゾールを得た先例を参考にする。また、家畜への強壯作用や有毒性を有し、予試験で昆虫細胞毒性や抗原虫・抗マダニ活性を示したキク科 *Artemisia* 属植物や、家畜の体表寄生虫を除する燻蒸剤として使用される *Brachanthemum gobicum* から、主にマダニへの効果を想定して特有なセスキテルペノイドとアシル化リグナンを得る。

(2) 上記で得た化合物を対象に、帯広畜産大学やモンゴル国立大学の協力者とともに、現地ですべての問題となる病原体やそのモデルに対して活性試験を行う。化合物を試験用に調整し、抗原虫・抗菌活性・抗ウイルス活性試験を実施する。

(3) 病原体媒介者のモデルとして主にエンドウヒゲナガアブラムシ (*Acyrtosiphon pisum*) を用いて試験を行う。殺虫活性及び生体への影響や忌避活性を評価するために、試験用アブラムシにサンプルを作用させ経過を観察する。昆虫自然免疫カスケードの最終段階であるフェノール酸化酵素に対する試験、また、その前段階に関連するセリンプロテアーゼの活性と発現を指標にした試験系を新しく構築して実施する。また、節足動物神経系を担い殺虫・殺ダニ剤標的にもなるアセチルコリンエステラーゼ阻害活性についても調べる。ここで得た昆虫試験の結果を活用して現地で抗マダニ化合物を評価する。

4. 研究成果

対象となるモンゴル国植物の成分解析を行った。続いて、得た化合物の各種病原体に対する影響を評価した。以下、具体例を挙げる。

熱病や炭疽への効果が知られるマメ科 *Oxytropis lanata* 地上部から抗トリパノソーマ活性フラボノイドと、ヒアルロニダーゼ阻害活性新規サポニンをはじめとする合計 32 種類の成分を単離して化学構造を決定した。根の成分と比較して、オキサゾールがあまり含まれていない一方で、サポニンが含まれていることを明らかにした。この成果は *Fitoterapia*, **145**, 104608 (2020) にて発表した。

また、キク科植物 *Artemisia sieversiana* の成分探索により、3 種類の新規セスキテルペンならびに抗トリパノソーマ活性を示すフラボノイドやリグナンをはじめとする合計 23 種類の成分を単離して化学構造を決定した。この成果は *J. Nat. Med.*, **74**, 750-757 (2020) にて発表した。

ユキノシタ科植物 *Saxifraga spinulosa* から、インフルエンザウイルスや SARS-CoV-2 を含む複数のウイルスに対して不活化活性を示す化合物を同定した。この成果は *Viruses.*, **12**, 699 (2020) にて発表した。また、同じくユキノシタ科植物 *Bergenia crassifolia* から新規 2 種類を含む含有成分を単離・構造決定し、家畜原虫病を引き起こすピロプラズマ原虫 *Babesia bovis* 及び *B. bigemina* に対する阻害活性を有することを見出した。この成果は *Phytochemistry letters*, **29**, 79-83 (2019) にて発表した。

更に、タデ科植物 *Calligonum mongolicum* の成分探索を行い、その成分についてモデル昆虫への作用を調べた。化学的には 2 種類の新規フェノール性化合物の化学構造を決定した。また、エンドウヒゲナガアブラムシ (*Acyrtosiphon pisum*) のフェノール酸化酵素に対してカテキンは、エピカテキンの IC₅₀ 値で 10 倍強く阻害することを見出した。この成果は *Phytochemistry Letters*, **41**, 147-151 (2021) にて発表した。

上記に加えて、モンゴル国立大学・モンゴル獣医学研究所の協力のもと、ヒトや家畜動物から吸血し病原体を媒介するマダニ (*Dermacentor nuttalli*) を現地で確保した。アブラムシモデルと同様の方法で、神経系を担うアセチルコリンエステラーゼ、自然免疫系を担うフェノール酸化酵素に係る試験をマダニに対し実施した。また現地協力者による抗マダニ活性スクリーニングから新たな課題植物を選出し、成分解析の準備を進めた。

本課題は 2021 年度より 21H02638 にて発展的に継続実施する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Odonbayar Batsukh, Tuvshintulga Bumduuren, Yokoyama Naoaki, Badral Duger, Buyankhishig Buyanmandakh, Batkhuu Javzan, Sughanuma Keisuke, Igarashi Ikuo, Sasaki Kenroh, Murata Toshihiro	4. 巻 43
2. 論文標題 Anti-piroplasma activity of 2-methylbutane galloyl glycosides from <i>Saxifraga spinulosa</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Phytochemistry Letters	6. 最初と最後の頁 135 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytol.2021.03.021	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 Buyankhishig Buyanmandakh, Murata Toshihiro, Odonbayar Batsukh, Batkhuu Javzan, Sasaki Kenroh	4. 巻 41
2. 論文標題 New compounds from the aerial parts of <i>Calligonum mongolicum</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Phytochemistry Letters	6. 最初と最後の頁 147 ~ 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytol.2020.12.002	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 Buyankhishig Buyanmandakh, Murata Toshihiro, Sughanuma Keisuke, Batkhuu Javzan, Sasaki Kenroh	4. 巻 145
2. 論文標題 Hyaluronidase inhibitory saponins and a trypanocidal isoflavonoid from the aerial parts of <i>Oxytropis lanata</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fitoterapia	6. 最初と最後の頁 104608 ~ 104608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fitote.2020.104608	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 Takeda Yohei, Murata Toshihiro, Jamsransuren Dulamjav, Sughanuma Keisuke, Kazami Yuta, Batkhuu Javzan, Badral Duger, Ogawa Haruko	4. 巻 12
2. 論文標題 <i>Saxifraga spinulosa</i> -Derived Components Rapidly Inactivate Multiple Viruses Including SARS-CoV-2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 699 ~ 699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12070699	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 Nurbek Stipan, Murata Toshihiro, Suganuma Keisuke, Ishikawa Yoshinobu, Buyankhishig Buyanmandakh, Kikuchi Takashi, Byambajav Tseesuren, Davaapurev Bekh-Ochir, Sasaki Kenroh, Batkhuu Javzan	4. 巻 74
2. 論文標題 Isolation and evaluation of trypanocidal activity of sesquiterpenoids, flavonoids, and lignans in <i>Artemisia sieversiana</i> collected in Mongolia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 750 ~ 757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-020-01429-2	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 Murata Toshihiro, Batkhuu Javzan	4. 巻 75
2. 論文標題 Biological activity evaluations of chemical constituents derived from Mongolian medicinal forage plants and their applications in combating infectious diseases and addressing health problems in humans and livestock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 729 ~ 740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-021-01529-7	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8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 村田 敏拓、菅沼 啓輔、Tserendorj Munkhjargal、Bumduuren Tuvshintulga、Buyanmandakh Buyankhishig、Dorj Ganchimeg、Badarch Batbold、Bekh-Ochir Davaapurev、五十嵐郁男、Dulamjav Batsuren、Javzan Batkhuu、佐々木 健郎
2. 発表標題 モンゴル国有用植物Yargui: <i>Pulsatilla flavescens</i> 花の成分薬効研究
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 村田敏拓、Stipan Nurbek、菅沼啓輔、石川吉伸、Buyanmandakh Buyankhishig、菊池貴、Tseesuren Byambajav、Bekh-Ochir Davaapurev、佐々木健郎、Javzan Batkhuu
2. 発表標題 モンゴル国産 <i>Artemisia sieversiana</i> から得た新規セスキテルペノイドと抗トリパノソーマ活性成分
3. 学会等名 日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Buyanmandakh Buyankhishig、村田 敏拓、Batsukh Odonbayar、Javzan Batkhuu、佐々木 健郎
2. 発表標題 New phenyl butanoid glucoside and (E)-5-(4-hydroxyphenyl)pent-2-enoic acid from <i>Calligonum mongolicum</i> ; anti phenyloxidase activity of catechin
3. 学会等名 日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村田 敏拓、Nurbek Stipan、菅沼 啓輔、石川 吉伸、Buyankhishig Buyanmandakh、菊池 貴、Byambajav Tseesuren、Davaapurev Bekh-Ochir、佐々木 健郎、Javzan Batkhuu
2. 発表標題 モンゴル国産 <i>Artemisia sieversiana</i> の成分と季節による家畜の嗜好性変化
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 B. Buyankhishig、村田敏拓、菅沼啓輔、Javzan Batkhuu、佐々木 健郎
2. 発表標題 A trypanocidal isoflavonoid and hyaluronidase inhibitory saponins from the aerial parts of <i>Oxytropis lanata</i> grown in Mongolia
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshihiro MURATA
2. 発表標題 Identifying lead compounds from Mongolian medicinal plants for infectious disease treatment
3. 学会等名 RESEARCH INNOVATION 2021 ONLINE INTERNATIONAL CONFERENCE, Mongolia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村田 敏拓、菅沼 啓輔、Tserendorj Munkhjargal、Bumduuren Tuvshintulga、Buyanmandakh Buyankhishig、Dorj Ganchimeg、Badarch Batbold、Bekh-Ochir Davaapurev、五十嵐郁男、Dulamjav Batsuren、Javzan Batkhoo、佐々木 健郎
2. 発表標題 モンゴル国有用植物Yargui: Pulsatilla flavescens花の成分薬効研究
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Researchmap 村田敏拓 https://researchmap.jp/read0148948 Researchmap MURATA Toshihiro https://researchmap.jp/read0148948 Google Scholar Murata Toshihiro http://scholar.google.co.jp/citations?user=y6YCE2YAAAAJ&hl=ja
--

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		
モンゴル	モンゴル国立大学	モンゴル獣医学研究所	モンゴル薬科学大学