

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15455

研究課題名（和文）寄生虫由来新規天然物探索を軸としたユニークな生合成経路の開拓

研究課題名（英文）Exploration of unique biosynthetic pathways based on the search for new natural products derived from parasites

研究代表者

上田 大次郎（Ueda, Daijiro）

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：60843919

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：8種類の寄生虫サンプルから新規天然物の探索を行った。その中でPharurus sunameriのGC-MS解析の結果、新規環状化合物である可能性があり、単離構造決定を目指した。その化合物がP. sunameriに普遍的に存在する化合物であるか、様々な宿主から単離された約100gのP. sunameriを解析した。また、異なる宿主から単離された同種の寄生虫が同一の化合物を生成しているか確認した。解析の結果、異なる宿主由来の同種寄生虫が同一の化合物をもつことを確認することはできなかった。また、P. sunameriに普遍的に存在する化合物であるか特定することもできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

天然物探索が全く行われていない寄生虫に焦点を当て、研究を丹念に行えば、新規性の高い天然物が見つかり、新規生合成経路および新規酵素が発見できると考え実験を行ったが、残念ながら、その発見には至らなかった。寄生虫の安定的な供給が困難なことや、個体ごとに再現性が取れない等問題点がいくつも見つかった。しかし、寄生虫に対する天然物探索・生合成研究的アプローチは初の試みであり、いまだ不明なことは多いが、今後さらなる解析により、新規生合成経路、新規酵素の発見、新規化合物の発見等のターゲットとして期待される。

研究成果の概要（英文）：We searched for novel natural products from eight different parasite samples. Among them, GC-MS analysis of Pharurus sunameri revealed that it may be a novel cyclic compound, and we aimed to isolate and determine its structure. We analyzed about 100 g of P. sunameri isolated from various hosts to see if the compound was universally present in P. sunameri. We also checked whether parasites of the same species isolated from different hosts produced the same compound. The results of the analysis did not confirm that the same parasites from different hosts have the same compounds. It was also not possible to identify whether the compounds were universally present in P. sunameri.

研究分野：生物有機化学

キーワード：天然物 寄生虫

1. 研究開始当初の背景

日本における寄生虫症の発生は医学の発展と共に減少の一途をたどっている。寄生虫症(2018年度全647例)で最も一般的なアニサキス症に関しても468例である(食中毒統計資料,厚生労働省,2018)。しかしながら、世界的な主要寄生虫感染状況は41.4億人(1人複数の寄生虫に感染している場合も含む延べ数)と人類にとって身近なものである(寄生虫学テキスト,文光堂出版,2010)。

中でも、**条虫類**(サナダムシ類)が引き起こすエキノコックス症や囊虫症は、いずれも**ヒトの寄生虫症として最も重症な部類のもの**であり、世界保健機関の「顧みられない熱帯病」リストに掲載されている。そのため、ヒト感染性の条虫類である多包条虫、単包条虫、有鉤条虫のゲノム塩基配列が解読されている(*Nature*, 496, 57, 2013)。この報告により、遺伝子が種特異的に拡大していることが明らかになり、多包条虫の1,000種類以上のタンパク質が治療標的候補となることがわかった。このように現在の寄生虫研究の最先端研究は**人類の脅威になりうる寄生虫の駆虫薬やゲノム解析(図1:①)**、**宿主に対する抗原抗体反応や規制機構の解明(図1:②)**が中心となっている。それ以外の寄生虫に関する研究はほとんど研究例がなくゲノム解析や分類学の進展も乏しい現状である。

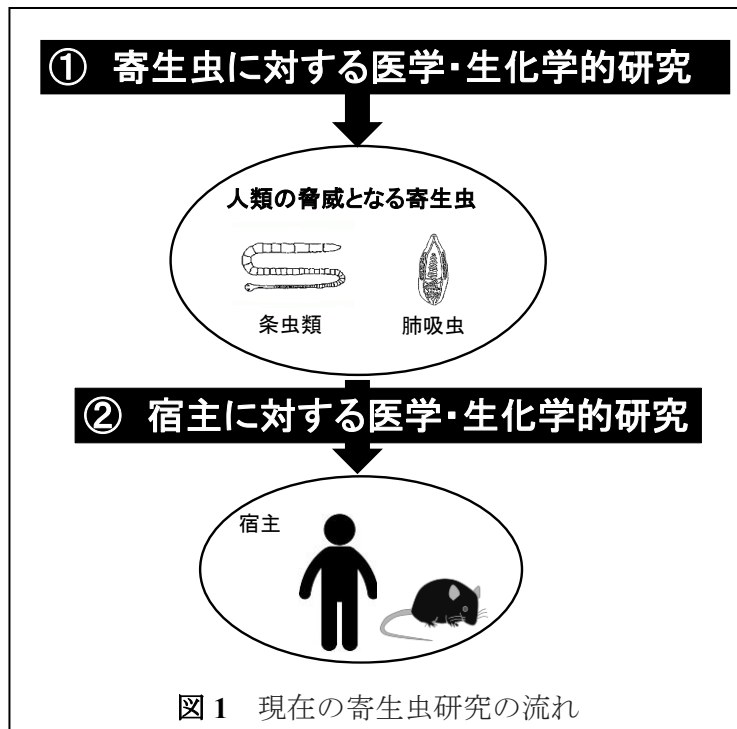


図1 現在の寄生虫研究の流れ

2. 研究の目的

一般的な寄生虫研究は、人類の脅威になりうる種に関して医学・生化学的な研究が飛躍的に進められている。本研究では以下の3点を目的とし、寄生虫研究に初めて天然物探索・生合成研究的アプローチを用いる。

1) 当該分野が得意とする**新規天然物の発見・ユニークな生合成経路の発見**を目指す(図2:1)。

2) **寄生虫ゲノムライブラリーを作成し、ゲノムマイニングにより、さらなる新規天然物および新規酵素の探索を行う**(図2:2)。

3) 最後にこれら**新規天然物の生理機能活性を明らかにする**(図2:3)。

このように1)から2)と3)へ二方向展開と循環を行うことにより、**新規天然物と新規有用ライブラリーの拡充**を目指す。このように**寄生虫から有用天然物を見出すスキームを創造する**

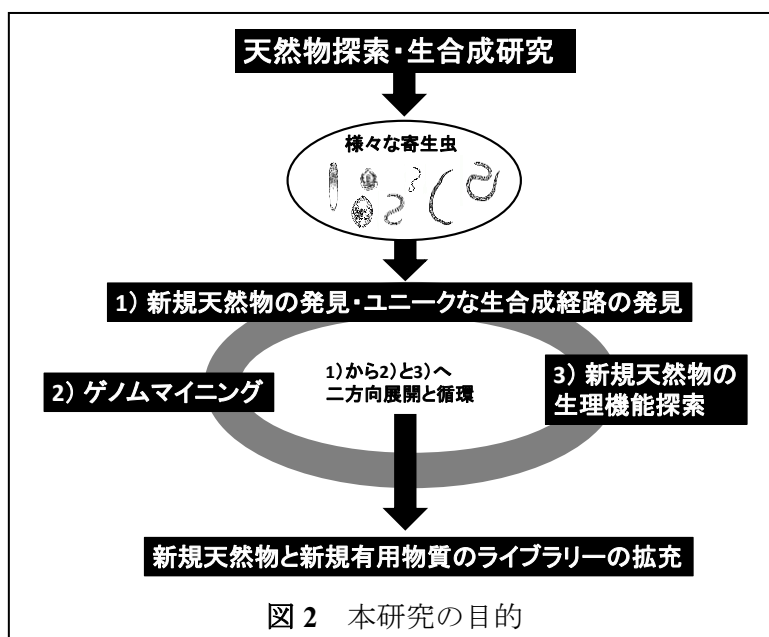


図2 本研究の目的

ことを最大の目的とする。

3. 研究の方法

天然物を単離し同定することにおいて、大量のサンプルが必要不可欠である。例えばバクテリアでは、10~100 L 以上の培養液から新規化合物を単離した例がある。しかし、バクテリアとは異なり、寄生虫は現時点では人工的に培養することは不可能であり、サンプルの確保は非常に困難である。また、安定した収量が期待でき、特定の種に普遍的に存在しているものが好ましい。さらに、寄生虫の中には体長が非常に小さな種(体長数 mm 程度)も存在し、取り扱いが難しい。また、宿主から単離する際、宿主の組織が付着する可能性もあり、コンタミネーションを引き起こしてしまう場合もある。

寄生虫から新規天然物を探索するにあたっては、これらの問題を踏まえた上でのサンプル選びが重要である。本研究では、鯨類に寄生する寄生虫をターゲットとした。鯨類は体長が大きいため、そこに寄生する寄生虫の収量や大きさが期待できたためである。

本研究において、鯨類およびマグロより単離された寄生虫を用いた。サンプルについて下表に示す(表 1)。各寄生虫を凍結乾燥させ、脂質成分を抽出し、GCMS 解析を行った。

表 1. サンプルとして用いた寄生虫について

種名	宿主	寄生部位	固定液	分類	湿重量(g)
(1) <i>Pharurus sunameri</i>	スナメリ	翼状洞	99 % EtOH	線虫	3.76
(2) <i>Anisakis</i> ①	コマッコウ	胃	10 % HCHO	線虫	3.09
(3) <i>Nasitrema gondo</i>	オガワコマッコウ	翼状洞	10 % HCHO	吸虫	3.14
(4) <i>Anisakis</i> ②	タイハイヨウアカボウモドキ	胃	80 % EtOH	線虫	3.20
(5) <i>Stenurus globicephalae</i>	カズハゴンドウ	翼状洞	70 % EtOH	線虫	3.01
(6) <i>Anisakis</i> ③	カズハゴンドウ	胃	80 % EtOH	線虫	3.18
(7) <i>Oschmarinella</i> sp.	ツチクジラ	肝臓	99 % EtOH	吸虫	3.05
(8) <i>Euryphorus brachypterus</i>	クロマグロ	エラ	-	カイアシ類	4.42

4. 研究成果

上記 8 種類の寄生虫の脂質成分を抽出し、GCMS 解析を行った。主だったピークのマスマスペクトルを解析し、ライブラリー検索を行った結果 *Pharurus sunameri* の脂質成分において環状化合物様のピークが検出された(図 3 矢印)。予想された化合物は確かに環状化合物であったが、ライブラリーの一致度は 60% と低く、新規環状テルペンである可能性が考えられた(図 4)。

この化合物を大量に単離し、構造決定や環化様式の解析を行うことを目標とした。最初に、この化合物が *P. sunameri* に普遍的に見られる化合物であるかを確認するために、新たに約 100 g (32 個体分) の *P. sunameri* サンプルを用意した。全てのサンプルに対し解析を行った結果、複数のサンプル間においてリテンションタイムが目的化合物とほぼ同様である化合物が確認された。マスマスペクトルを確認し、ライブラリー検索を行った結果、既知の化合物と一致度が高く、目的化合物とは異なる化合物であった。

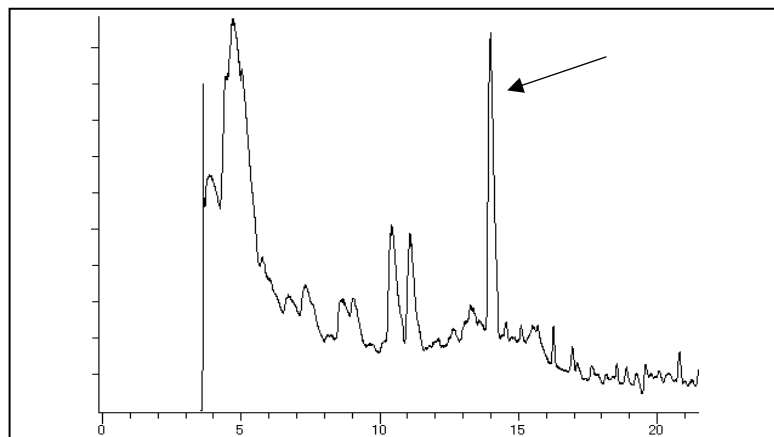


図 3 *P. sunameri* の脂質成分の GCMS 解析クロマトグラフィー

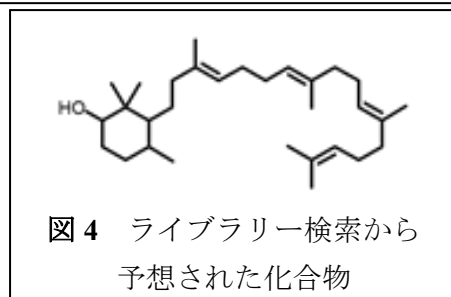


図 4 ライブラリー検索から予想された化合物

今回、異なる宿主由来の同種寄生虫が同一の化合物をもつことを確認することはできなかった。また、新規化合物であると予想したピークは、他のサンプルにおいても確認されなかったため、*P. sunameri*において普遍的に存在する化合物であることを証明できなかった。寄生虫の安定的な供給が困難なことや、個体ごとに再現性が取れない等問題点がいくつも見つかった。しかし、寄生虫に対する天然物探索・生合成研究的アプローチは初の試みであり、いまだ不明なことは多いが、今後さらなる解析により、新規生合成経路、新規酵素の発見、新規化合物の発見等のターゲットとして期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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