

トリパノソーマに対する生薬由来化合物・抽出物の抗原虫効果の検討

申請代表者	平山 謙二	長崎大学 熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野	教授
所外共同研究者	水上 修作	長崎大学 熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野	助教
所外共同研究者	田山 雄基	長崎大学 熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野	大学院生

■背景・目的

トリパノソーマは、幅広い宿主に寄生する原虫で、シャーガス病 (*Trypanosoma cruzi*) やアフリカ睡眠病 (*T. brucei*) などを引き起こす。これらの有効な治療法についての研究は十分に進んでおらず、“顧みられない熱帯病”と呼ばれる疾患群に含まれている。我々は、これまでに和漢薬ライブラリーの中から優れた抗マラリア効果を持つ化合物・抽出物を発見した経験を活かし、新規抗シャーガス病薬開発を目指して、和漢薬ライブラリーに含まれるサンプル (生薬由来化合物・生薬エキス) の *T. cruzi* に対する抗原虫活性を検討することとした。

■結果・考察

今回は、サンプルのトリポマスティゴート型及び (感染細胞内での形態である) アマスティゴート型 *T. cruzi* に対する活性の検討を行った。

サンプルを 96 ウェルプレートに準備し、ここにトリポマスティゴート型 *T. cruzi* (Tulahuen 株) と NBMH (New Born Mouse Heart) 細胞を混ぜたものを加え、プレートを 37°C5%CO₂ インキュベーター内で静置した (サンプルの最終濃度は、生薬由来化合物は 20 µM、生薬エキスは 20 µg/mL)。今回の実験には、ルシフェラーゼを発現する組換え原虫を使用し、ルシフェラーゼの基質を加えた際の発光量をもとに、原虫量を測定することとした。3 日間の静置後、原虫と細胞を含むプレートに基質を加えて、発光量を検出した。

各サンプルの発光量を、0.5%NP40 で処理をしたウェル (阻害率 100%)、及び、溶媒のみを加えたウェル (阻害率 0%) のウェルと比較して、各サンプルの原虫阻害率を算出した。

夫々のサンプルの阻害率は、生薬由来化合物 (全 96 種) では、40%以下 : 82 種、40~60% : 3 種、60~80% : 3 種、80~100% : 9 種であった。また、生薬エキス (全 120 種) では、40%以下 : 112 種、40~60% : 3 種、60~80% : 0 種、80~100% : 5 種であった (表 1)。なお、実験は 3 回行い、中央値を算出した (特許出願の可能性があり、詳細は現時点では開示しない)。

阻害率 60% をカットオフ値としたところ、12 種の生薬由来化合物及び 5 種の生薬エキスが、比較的高い抗トリパノソーマ活性を持つサンプルとして選定された。また、同時に行った細胞傷害性試験 (詳細は割愛) の結果、これらの内 5 種の生薬由来化合物及び 3 種の生薬エキスは、比較的細胞傷害性が低く (細胞傷害率 40% 以下)、より詳細な検討を行うのに適したサンプルであると考えられた。

■結論

生薬由来化合物・生薬エキス双方から、高い抗トリパノソーマ活性を示し、かつ細胞傷害性の低い、サンプルを複数個発見することができた。今後、IC₅₀ (50%阻害濃度)、CC₅₀ (50%細胞傷害濃度) を決定し、動物実験などを行う予定である。

和漢薬に基づいた抗原虫薬開発という和漢研・熱研双方の特色を生かした共同研究として、今後の発展が期待できる結果が得られた。

阻害率	生薬由来化合物	生薬エキス
80~100%	9 (9.4%)	5 (4.2%)
60~80%	3 (3.1%)	0 (0%)
40~60%	3 (3.1%)	3 (2.5%)
0~40%	82 (85.4%)	112 (93.3%)
計	96 (100%)	120 (100%)

表1 各生薬由来化合物および生薬エキスのトリパノソーマ阻害率