

エキノコックスミトコンドリア呼吸鎖を標的とする新規駆虫薬の開発

松本 淳 [北海道大学大学院獣医学研究寄生虫学教室 / 博士研究員]

背景・目的

エキノコックスは、北海道のほぼ全域に蔓延する人獣共通寄生虫であり、人体に致死的な疾患をもたらす。現在、エキノコックス症に対する特効薬はなく、その開発は急務である。回虫などの寄生虫は、酸素を利用して宿主体内の低酸素環境に適応しており、その中心を担うのが嫌気的ミトコンドリア呼吸鎖であることが、近年明らかになってきた。寄生虫が独自に持つ嫌気的ミトコンドリア呼吸鎖は、選択的な化学療法の標的として極めて有望である。本研究の目的は、エキノコックスが持つミトコンドリア呼吸鎖の特性を明らかにし、新規治療薬の開発に結びつけることである。

内容・方法

幼虫期エキノコックスの虫体内に含まれる原頭節を分離し、採取した原頭節から遠心分画法によりミトコンドリアを単離した。得られたミトコンドリアを材料として、嫌気的呼吸鎖および好気的呼吸鎖における主要な酵素活性をそれぞれ測定した。ここでは、試験管内で原頭節ミトコンドリアと各種反応基質を反応させ、指標となる化合物濃度の変化を分光光度計で経時的に測定することにより酵素活性を評価した。さらに、ミトコンドリア呼吸鎖における電子運搬体として機能するキノン分子種の組成を、HPLCおよび質量分析により解析した。

次に、原頭節ミトコンドリア呼吸鎖の主要な活性に対する阻害剤を探索した。ここでは、嫌気的NADH-フマル酸還元活性に対する阻害効果を指標として、被検化合物による阻害効果を評価した。候補化合物として、回虫ミトコンドリアの嫌気的呼吸鎖に対する阻害剤であるキナゾリンおよびその誘導体を中心に試した。新規駆虫薬候補として有望な化合物については、培養虫体に対する殺滅効果を評価した。

結果・成果

はじめに、回虫からのミトコンドリア単離法を改変することにより、エキノコックス原頭節ミトコンドリアの単離法を確立した。得られたミトコンドリアについて、エネルギー転換反応に関する種々の酵素活性を測定した結果、一般に嫌気的呼吸鎖の中心を担うと考えられているNADH-フマル酸還元活性が主要な活性として観察された。さらに、原頭節由来ミトコンドリアに含まれるキノンの大部分は、ロドキノンであることが明らかとなった。ロドキノンは、他の真核細胞生物の嫌気的呼吸鎖において電子伝達体として利用される脂溶性の低分子であることが知られている。また、原頭節由来ミトコンドリアの酵素複合体IIは、ユビキノンと比較してロドキノンに対してより高い反応選択性を示すこと、さらに、酵素複合体IIは、嫌気的呼

吸鎖の一部であるロドキノール-フマル酸還元酵素として有利に機能することが、酵素学的解析により明らかになった。以上の結果は、原頭節由来のミトコンドリア呼吸鎖が、主に嫌気的呼吸鎖として機能していることを示す。つまり、エキノコックス原頭節は、ヒトとは異なる独自の嫌気的エネルギー代謝システムに依存していることから、ミトコンドリア呼吸鎖を標的とすることにより有効な選択的駆虫薬開発が可能であることが示された。

次に、エキノコックス原頭節の嫌気的ミトコンドリア呼吸鎖の主要な活性であるNADH-フマル酸還元活性に対して高い阻害効果を示し、かつ宿主哺乳類ミトコンドリアに対する阻害効果の低い化合物を探索した。その結果、キナゾリン誘導体のひとつである8-OH誘導体が、比較的選択性の高い化合物として見いだされた。原頭節ミトコンドリアのNADH-フマル酸還元活性(嫌気的)およびウシ心筋ミトコンドリアのNADH-酸素還元活性(好気的)に対するIC50は、それぞれ72nMおよび180nMだった。次に、キナゾリン(8-OH誘導体)によるエキノコックス原頭節に対する殺滅効果を評価した。その結果、溶媒(DMSO)のみ添加の対照群虫体は培養10日目まで90%以上の高い生存率を維持したのに対して、50μMキナゾリン(8-OH誘導体)処理原頭節は培養3日目から急激に死亡し始め、培養5日目に全滅した。この抗原頭節効果は、農薬として広く使われているロテノンと同等の高い原頭節殺滅効果だった。また、キナゾリン(8-OH誘導体)は培養エキノコックスシスト(幼虫全体)に対しても高い殺滅効果を示し、新しい人体エキノコックス症治療薬開発におけるリード化合物として有望であることが明らかとなった。

今後の展望

エキノコックスのミトコンドリア呼吸鎖に対する阻害剤を駆虫薬として使用するためには、宿主哺乳類細胞に対する安全性を確認する必要がある。今後、哺乳類細胞に対するキナゾリン(8-OH誘導体)の影響を明らかにする。また、回虫などの嫌気的呼吸鎖に対する阻害効果が確認されている他の化合物についても、エキノコックスに対する殺滅効果を評価し、新たな抗エキノコックス薬候補化合物を探索する。最終的には、感染実験動物に対する治療試験を経て、ミトコンドリア呼吸鎖を標的とする抗エキノコックス薬の実用化に結びつけたい。