

受入大学名	帯広畜産大学		
Host University	Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine		
外国人研究者	アーボン リーソンブン		
Foreign Researcher	ARPRON LEESOMBUN		
受入研究者	西川 義文	職名	教授
Research Advisor	YOSHIFUMI NISHIKAWA	Position	Professor
受入学部/研究科	畜産学研究科		
Faculty/Department	Animal and Veterinary Sciences and Agriculture		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	タイ
Nationality	Thailand
所属機関	マヒドン大学獣医学部
Affiliation	Faculty of Veterinary Science, Mahidol University
現在の職名	専任講師
Position	Instructor
研究期間	2019年7月1日 ~ 2019年9月28日 (90日間)
Period of Stay	90days ( July 1, 2019 - September 28, 2019)
専攻分野	寄生虫病学
Major Field	Parasitology



Arpron Leesombun

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

<p><b>①研究課題 / Theme of Research</b></p> <p>Toxoplasmosis, the disease causes by <i>T. gondii</i> which effects more than one third of human population, causes negative impact particularly in immunocompromised patients. Currently, the toxoplasmosis treatment is the combination between pyrimethamine and sulfonamide. The drugs have effective only tachyzoite stage and the severe adverse reactions in some patients have been found. The finding for more efficacy and low side effects are required for toxoplasmosis treatments. Flavonols, these compounds can be found in many edible plants, and have several bioactivity such as anti-toxoplasma activity, anti-plasmodium activity. Therefore, the aims of this study are to comparing anti-toxoplasma activity of three flavonols; quercetin, kaempferol and myricetin.</p>
<p><b>②研究概要 / Outline of Research</b></p> <p>The three flavonols; quercetine, kaempferol, myricetin were evaluated the cytotoxicity and anti-Toxoplasma activities by in an in vitro. The cytotoxicity was performed on human foreskin fibroblast (HFF) cells, HFF cells were treated with three flavonols with different concentrations. After incubation for 72 h, the cell viability was measured by adding cell counting kit-8 to the cultures and measured the absorbance of the supernatant at 450 nm using an MTP-120 microplate reader. Anti-toxoplasma activity (RH-GFP, type I strain), the infected HFF cells were treated with three flavonols with the different concentrations, and after 72 h incubation, the fluorescence intensity of RH-GFP was measured using a microplate reader.</p>
<p><b>③研究成果 / Results of Research</b></p> <p>The three flavonols; kaempferol, quercetin and myricetin were evaluated anti-Toxoplasma activity. The half maximal inhibitory concentration (IC50) on intracellular parasites, kaempferol was the most effective (IC50 = 6.8 μM), followed with myricetin (IC50 = 53.9 μM) and quercetin (IC50 = 102.3 μM). The inhibition effect on HFF cell growth were evaluated, quercetin had IC50 234 μM, myricetin had IC50 58.7 μM. Selectivity index values of quercetin and myricetin were 2.3 and 1.1. Kaempferol at 250 μM could not all dissolve within media, and at 100 μM could dissolve in the media with showed not inhibition HFF cell growth. From the results we can conclude that kaempferol was the most effective with low cytotoxicity compared with other compounds; quercetin and myricetin.</p>
<p><b>④今後の計画 / Further Research Plan</b></p> <p>The plants have been used in traditional medicine practices since prehistoric times. Due to the high biodiversity of plants in tropical area, Thailand are importance resources of the discovery and development of new compounds for treatment infectious diseases. The biological researches related to plant extracts are useful and hopeful, leading to new drug developments. From our results, we found that flavonols had anti-toxoplasma activity which low cytotoxicity. For the further study, we will extract the plants that contain flavonol group for determining the effects on <i>T. gondii</i>. These plant extracts might be use for alternative treatments or supplements because of lower side effects and economic cost than chemical compounds.</p>

<受入研究者からの報告/Research Advisor Report>

①研究課題 / Theme of Research

タイ国は世界有数の生物多様性と生物資源価値を有するが、国内での創薬等への応用に必要な学問・技術分野の基盤が脆弱である。留学生は大学院在学時に抗寄生虫効果を有する自国の薬草をスクリーニングし、コショウ科植物抽出物の有効性を見出し論文として発表している(Parasitol Int. 2017; PLoS One. 2016)。留学生は抗寄生虫作用を有するタイ国薬草を複数同定しており、これらの薬草の成分にはフラボノイドが含まれている。今回はその一群であるフラボノール(quercetone, kaempferol, myricetin)に着目した。フラボノールは熱ショックタンパク質を阻害することでガン細胞を死滅させる効果があるため、寄生虫に対する効果も期待できる。本研究では各種フラボノールのトキソプラズマ原虫に対する増殖抑制効果を検証した。

②研究指導概要 / Outline of Research

2016年より受入研究者とタイ・マヒドン大学獣医学部と共同で本格的な学術調査が開始された。タイ国で病原性原虫(トキソプラズマ、ネオスポラ、クリプトスポリジウム)の存在が科学的に実証されると、タイ国の天然資源を用いた抗原虫薬の開発が本格的に議論されてきた。留学生は帰国後、現所属機関であるマヒドン大学獣医学部の研究環境を把握し、自国での研究基盤の構築のために必要な事柄を整理している。具体的には、細胞培養技術と薬草抽出物から有効成分を同定する技術の導入が必要である。従って、本短期研究では上記研究課題を遂行することで技術指導を行い、細胞培養技術を再習得させた。また、論文作成能力を向上させるため、滞在期間中に抗原虫薬に関する論文2報の作成を行った。

③研究指導成果 / Results of Research

フラボノール(quercetone, kaempferol, myricetin)のトキソプラズマ原虫に対する増殖抑制効果をIC50値で解析したところ、kaempferolで6.8 μM、myricetinで53.9 μM、quercetoneで102.3 μMの結果が得られた。これら化合物の細胞毒性を測定したところ、myricetinで58.7 μM(選択毒性: 1.1)、quercetoneで234 μM(選択毒性: 2.3)の結果が得られた。一方、kaempferolは解析可能な最高濃度100 μMでも細胞毒性を示さなかった。以上の結果により、kaempferolがトキソプラズマ原虫に対する増殖抑制効果を示すことが明らかとなり、今後治療薬としての効果を詳しく検証していく。また、微生物化学研究所との共同研究で見出した天然化合物についても、トキソプラズマ原虫に対する増殖抑制効果の解析を行った。本化合物は、動物実験でも有効性を確認できたため、この研究成果については論文を作成し、学術論文への掲載が受理された(Accepted in The Journal of Infectious Diseases)。

④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program

実験スケジュールの都合で微生物化学研究所と東京大学への訪問は行わず、つくば国際会議場で開催された第162回日本獣医学会学術集会へ参加し、研究発表(演題名: Effect of metacytofilin against *Toxoplasma gondii*)を行った。発表内容は、微生物化学研究所との共同研究で見出した天然化合物の抗トキソプラズマ作用に関するものであり、微生物化学研究所とのデータのやり取りと協議を経て発表内容を完成させた。また、学会会場では当初訪問予定であった東京大学の研究者から研究成果に対する意見と可能性を伺った。受け入れ機関の帯広畜産大学原虫病研究センターでは研究室セミナーを開催し、研究成果に関する報告を行った。受け入れ研究室では、所属学生の技術指導も担当した。

⑤今後の計画 / Further Research Plan

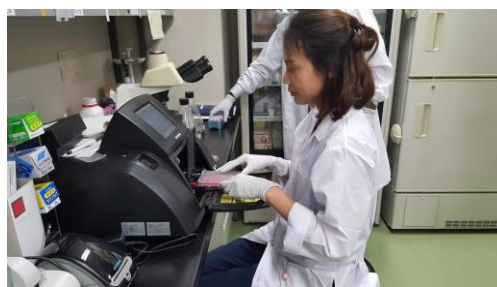
タイ国は世界有数の生物多様性と生物資源価値を有するため、様々な疾患の治療薬になり得る化合物のシーズが存在している可能性が高い。今後もこの可能性を継続的に検証していくための学術交流を維持していく予定である。日本学術振興会の国際交流事業への申請等により受け入れ研究者がタイへ訪問すること、および留学生が受け入れ研究者の研究室へ訪問できる機会を提供するなどして交流を維持する。また、帯広畜産大学原虫病研究センターの特任研究員へ採用されれば、受け入れ研究室で研究を継続することも可能である。



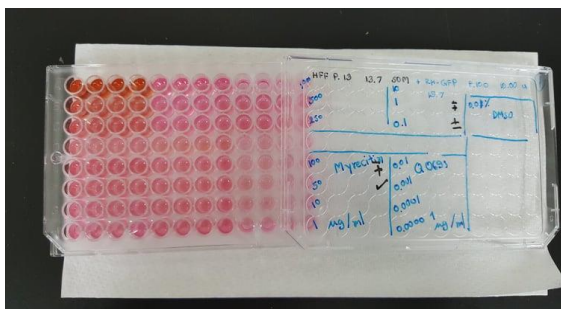
第162回日本獣医学会学術集会へ参加  
Attendance of The 162nd meeting of the Japanese Society of Veterinary Science



研究成果発表/Research presentation



実験室での作業風景/Work in laboratory



抗トキソプラズマ活性を有する化合物のスクリーニング  
Screening of compounds on anti-Toxoplasma activity.

化合物処理後のトキソプラズマ由来緑色蛍光タンパク質のシグナル  
Signals of green fluorescence protein expressed from *Toxoplasma* under treatment with compounds

