

氏 名 森田 将之

授与した学位 博士

専攻分野の名称 薬学

学位記授与番号 博甲第 4753 号

学位授与の日付 平成 25 年 3 月 25 日

学位授与の要件 医歯薬学総合研究科創薬生命科学専攻

(学位規則第 5 条第 1 項該当)

学位論文の題目 環状過酸化物の抗マラリア作用機序の解析

論文審査委員 教授 田中 智之 准教授 黒田 照夫 准教授 西屋 禎

### 学位論文内容の要旨

マラリアはその死亡者が 65 万人近くにのぼる世界最大の寄生原虫感染症である。薬剤耐性マラリア原虫が蔓延しつつある中、マラリア制圧へ向けた新たな抗マラリア薬の開発は世界的な急務となっている。当研究室では、これまでに *in vitro*、*in vivo* 共に優れた抗マラリア活性を有する環状過酸化物 N-89 及び N-251 を見出しており、その抗マラリア作用機序の解析研究を行っている。作用機序を解明することによって副作用の予測が可能となるだけでなく、併用薬の選択も可能となり、薬剤耐性の克服にも貢献できる。本研究は N-89 及び N-251 の抗マラリア作用機序を解明することを目的として以下の研究を行った。

#### 1) プロテオーム解析による N-89 及び N-251 の標的候補タンパク質の選抜

N-89 又は N-251 を Trophozoite 期のマラリア原虫に作用させた時にどのようなタンパク質が変動するかをプロテオーム解析によって網羅的に解析した。その結果、多数のマラリア原虫タンパク質が薬剤作用によって増減した。これまでに N-89 誘導体と親和性を有するマラリア原虫タンパク質が同定されている。その中でも、本プロテオーム解析で N-89 作用時及び N-251 作用時両方の場合に共通して変動していたマラリア原虫タンパク質 PfERC を N-89 及び N-251 の標的候補タンパク質として選抜した。PfERC は N-89 又は N-251 の作用によって減少し、N-89 誘導体と親和性を有するため、N-89 及び N-251 と PfERC の結合が PfERC の減少に関与している可能性が考えられた。

#### 2) 標的候補タンパク質 PfERC の機能解析

PfERC と相互作用するマラリア原虫タンパク質の探索を行ったが、相互作用するタンパク質は本研究では見出せなかった。このことから、PfERC は他のタンパク質と非常に弱い相互作用をしている可能性が考えられた。表面プラズモン共鳴法を用いた解析より、N-89 及び N-251 は弱いながらも PfERC と特異的な親和性を有することが示された。N-89 及び N-251 は自身の環状過酸化構造よりラジカルを産生することから、産生されたラジカルが直接 PfERC と反応し、PfERC を減少させて抗マラリア作用を示す可能性が考えられた。そのため、原虫内で PfERC を過剰発現させることによって薬剤の作用が減弱化するのではないかと考えた。PfERC を 2 倍多く発現する遺伝子組換え原虫を作製し、N-89 の感受性を測定した結果、その感受性は 1/2 に低下した。この結果は、PfERC が標的タンパク質である可能性を支持するものである。

本研究によって新規抗マラリア薬として有望な環状過酸化物 N-89 及び N-251 の作用機序の一端が提示でき、臨床における併用薬の選択、副作用の回避、耐性の克服に大きく寄与すると考えられる。

## 論文審査結果の要旨

本研究課題は、抗マalaria作用を有する化合物の作用機序を解析したものであるが、学位論文の草稿について審査員から実験手法の妥当性、実験結果の解釈が適切かどうかについていくつかの意見が寄せられた。研究の根幹に関わる疑問点として、本研究で着目されているマalaria原虫のタンパク質 PfERC が化合物 N-89、N-251 の標的タンパク質であるという結論が妥当であるかという問題について討議された。PfERC は両化合物の作用によりその発現量が減少するタンパク質であること、化合物が弱いながらも特異的な相互作用をする可能性が示唆されたこと、強制発現させることにより化合物の作用が減弱することが結論に至る根拠として学位申請者より提示された。PfERC は、マalaria原虫における解析そのものが進展していないことからその機能が未知であることや、ノックダウン、ノックアウトといった他の生物種において標準的な遺伝子操作がマalaria原虫の系では確立していないことなどを考慮し、審査員は現時点では今回の検討は十分なものであるという結論に至った。学位申請者は、マalaria研究特有の技術的、学術的問題について審査員に詳しく説明し、実験可能な問題については審査期間中も実験を行い、結論を得ようと務めた。審査員との討論ではいずれもポイントを理解した対応を行っており、今回得られた知見の新規性、および申請者の研究に取り組む姿勢は学位授与に相応しいものである。