

氏名	松森 宏明		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	薬学		
学位授与番号	博甲第 7261 号		
学位授与の日付	令和 7 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	マラリア病態モデルを用いた新規環状過酸化化合物・N-89 の治療早期におけるマラリア原虫反応様式の解析		
論文審査委員	垣内 力 教授	上原 孝 教授	丸山 正人 准教授

学位論文内容の要旨

薬剤耐性マラリア原虫の出現はマラリア患者の治療を困難にしている。当研究室では、既存抗マラリア薬の artemisinin (ART) が有する環状過酸化構造に着目した新規抗マラリア薬の研究開発過程で、1,2,6,7-tetraoxaspiro[7.11]nonadecane (N-89) を見出した。マラリアによる死者の約 8 割を 5 歳未満の子供が占めるため、我々は N-89 の難水溶性低分子化合物という特徴を活かした剤形検討を行い、polyethylene glycol を基剤とした経皮吸収製剤 (transdermal formulation; td) を見出した。ネズミマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) 感染マウスに td N-89 を 1 日 2 回、4 日間塗布すると、感染率は 24 時間後をピークに減少し、再燃なく完治することを報告している。しかし、td N-89 処理後 24 時間目までにマラリア原虫内で起こる反応様式については明らかではない。本研究では、マラリア病態モデルとして、*P. berghei* 感染マウスを用い、td N-89 処理直後にみられるマラリア原虫反応様式の解析を行った。

始めに、4-day suppressive test を行い、td N-89 および td ART のマラリア原虫阻害量 (effective of dose: ED) を算出した。td N-89 および td ART の ED₉₀ 値は、それぞれ 46.0±4.0 mg/kg、21.8±3.9 mg/kg であり、ART が経皮吸収製剤として抗マラリア活性を示すことを初めて明らかにした。0.2-0.4 % の *P. berghei* 感染マウスに td N-89 および td ART を 1 日 2 回、4 日間塗布したところ、それぞれの感染率は 24 時間目および 12 時間目をピークに低下し、塗布終了直後における感染率は、約 0.01 % だった。薬剤塗布開始後 30 日目までの生存日数をモニタリングしたところ、td N-89 群および td ART 群の生存日数はそれぞれ 22.4±7.9 日以上、11.0±0.8 日であり、td N-89 群は、td ART 群と比べて、延命することが分かった。

td N-89 処理後 24 時間以内に抗マラリア活性を示す可能性から、*P. berghei* 感染マウスへ td N-89 を処理した後における赤内期マラリア原虫のステージ分布および形態変化を評価した。td N-89 処理により、ring ステージ分布は増加した一方、trophozoite および schizont ステージ分布は減少した。さらに、td N-89 処理後 8 時間目から、凝縮核や不規則な細胞質がみられる abnormal trophozoites が時間依存的に増加することが *in vivo* で初めて分かった。

td N-89 処理後 8 時間目から abnormal trophozoites が出現したことから、*P. berghei* 感染マウスへ td N-89 を処理した後における遺伝子発現変動を解析した。N-89 標的候補分子・endoplasmic reticulum-resident calcium binding protein (*PbERC*) は、td N-89 処理後 2 時間目から 12 時間目まで継続的に抑制された。一方、td ART 群の *PbERC* 遺伝子発現は時間依存的に増加し、12 時間目における control 群の遺伝子発現と同等だった。また、apicoplast 膜形成に関わるオートファジー関連遺伝子、および、gametocytes の

形成並びに適正数維持に関与するアポトーシス関連遺伝子が td N-89 処理早期から変動することが分かった。

本研究より、N-89 は ART と同等以上の抗マラリア活性を示し、治療早期からマラリア原虫のステージ分布、形態および遺伝子発現を変動させることを明らかにした。これら結果は、td N-89 の抗マラリア薬効 (感染率低下) がみられる前の原虫側における反応であり、特に、*PbERC* 遺伝子発現が td N-89 処理早期から変動することを *in vivo* で初めて明らかにした。

論文審査結果の要旨

本論文では、*Plasmodium berghei* 感染マウスを使用して、抗マラリア候補薬である N-89 の経皮吸収製剤が原虫のステージ分布と遺伝子発現に及ぼす影響を解析している。N-89 の経皮吸収製剤の処理後 24 時間の間に、凝縮核や細胞質の形態が異常なトロフォゾイト (trophozoites) が増加することを見出した。また、N-89 経皮吸収製剤の処理後 24 時間の間に、N-89 標的候補分子である endoplasmic reticulum-residence calcium-binding protein (ERC) を含む複数の原虫遺伝子の発現が抑制されることを見出した。これらの形態的变化と遺伝子発現変化が N-89 経皮吸収製剤の抗マラリア活性を説明するかについては更なる検討が必要であるものの、感染マウス個体を用いて N-89 経皮吸収製剤がマラリア原虫の形態と遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにした点は、質・量が担保された新規性と学術的な重要性がある研究成果である。以上の点から、本論文が博士論文に値すると判断した。