

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 遠海 重裕

本研究は、現在、有効な治療薬がない*Echinococcus multilocularis*に対する創薬を目的とし、その生存にとって重要な役割を果たしているミトコンドリア呼吸鎖、特に複合体IIとIIIを薬剤標的として着目して進められている。研究は*E. multilocularis*のミトコンドリアの特性の解析と阻害剤の探索を行い、さらに培養系・*in vivo*での薬剤効果の評価を試みたものであり下記の結果を得ている。

1. *E. multilocularis*のミトコンドリア複合体IIのキノン結合部位に対する阻害剤の探索を行いアスコフラノン誘導体、フェルレノール、シッカニン、アトバコンがnMオーダーで阻害することが判った。アスコフラノン誘導体でIC₅₀が37～88 nMと極めて低濃度で複合体IIを阻害する化合物が見出され、さらに選択性（哺乳類に対するIC₅₀との比）が2000倍と極めて高い化合物も見出された。
2. 複合体IIIのキノン結合部位を阻害する化合物について探索を行った。その結果、アスコフラノン誘導体の中でIC₅₀ 8.2 nMや16 nMの低濃度で阻害する化合物が見出された。またアトバコンがIC₅₀ が0.15 nMの極めて低濃度で阻害することも判明した。
4. 複合体IIとIIIに対して強い阻害活性を示した化合物を培養系の原頭節（エキノコックス幼虫）に50 μM添加して殺滅効果を確認した。アスコフラノン誘導体の中で培養系の原頭節を3から7日で殺滅できる複数の化合物が見出された。またアトバコンも7日目に全ての原頭節を殺滅することができた。この培養系の結果からエキノコックスの複合体II、IIIは薬剤標的となることが示された。
5. エキノコックスの複合体I、II、IIIを特異的に阻害する化合物（それぞれロテノン、アトペニンA5、アンチマイシン）を添加して好気条件と低酸素条件での原頭節の生存率を確認し、各複合体の機能の重要性を評価した。好気条件では複合体IIのみを阻害しても殺滅はできないが、複合体IIIのみを阻害することで強い殺滅効果が得られたことから酸素存在下ではエキノコックスは主に酸素呼吸を行っていることが示唆された。また低酸素条件では好気条件とは逆に複合体IIIのみを阻害しても殺滅することはできず、複合体IIを同時に阻害することで殺滅することから低酸素条件ではエキノコックスはフマル酸呼吸に呼吸鎖を切り換えていることが判った。このようにエキノコックスは酸素環境では酸素呼吸、低酸素環境ではフマル酸呼吸と呼吸系を使い分

けて環境に適応していることが示された。また薬剤標的としての複合体IIとIIIを同時に阻害することが強い殺虫効果が得られることが示された。

8. 複合体IIIを最も低濃度で阻害したアトバコンを利用して*in vivo*実験を行った。エキノкокクス感染マウスを作成し肝臓にシストが形成された時点からアトバコン単剤、アトバコンとプラジカンテル併用、アスコフラノン併用、プログアニル併用群のグループに分けて3ヶ月の間経口投与を行い、コントロール（無投薬）と治療効果の比較を行った。アトバコン単剤、プラジカンテル併用、アスコフラノン併用群でコントロールと比較して有為なシスト形成の減少を認めた。アトバコンが治療薬の基軸となる可能性が高い薬剤として見出され、*in vivo*でもミトコンドリア呼吸鎖が薬剤標的となることが示された。

以上、本論文はエキノкокクスのミトコンドリア呼吸鎖を構成する複合体IIとIIIが薬剤標的となることを示し、キノン結合部位阻害剤であるアスコフラノン誘導体とアトバコンが低濃度でこれらを阻害することを見出した。さらに感染マウス治療実験ではアトバコンがエキノкокクスのシスト形成を阻害できることを明らかにした。治療薬のないエキノкокクス感染症にとって複合体IIとIIIが薬剤標的となることが明らかになったことは今後の創薬にとって重要な貢献をなすと考えられ、その中で抗マラリア薬としてすでに臨床で使用されているアトバコンが治療薬の候補となりうる結果を見出したことは学位の授与に値するものと考えられる。