

審査の結果の要旨

氏名 小松谷 啓介

本研究は熱帯熱マラリア原虫の宿主環境適応において重要な役割を果たしているミトコンドリア電子伝達系複合体 II の生理学的な機能解析とその複合体 II を標的とした新規薬剤の開発を目的とし、熱帯熱マラリア原虫の複合体 II の特異的阻害剤を探索し、酵素、原虫の培養系を用いて化合物による阻害効果の検討、化合物による複合体 II の機能解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 緑膿菌、真菌、トリパノソーマの複合体 II に対する強力な阻害剤として化合物シッカニンが当研究室において見出された。そこで、熱帯熱マラリア原虫の複合体 II をシッカニンが阻害するかを、ミトコンドリア画分を調製し、複合体 II の酵素活性を用いて検討した。その結果、シッカニンは熱帯熱マラリア原虫の複合体 II を nM オーダーで阻害し、マラリア原虫の複合体 II を低濃度で阻害する初めての阻害剤であることを見出した。
2. シッカニンの複合体 II の阻害効果を用いた生化学的な解析の結果、シッカニンはマラリア原虫の複合体 II に対して、典型的な二相性の阻害様式を示し、マラリア原虫の複合体 II はキノン結合部位を二つ持つ可能性を示した。このことから、マラリア原虫の複合体 II は Succinate-quinone reductase (SQR)活性だけではなく Quinol-fumarate reductase (QFR)活性として機能する可能性を示した。
3. 複合体 II の阻害剤であるシッカニンの熱帯熱マラリア原虫に対する阻害効果を、Lactate dehydrogenase (LDH)アッセイを用いて検討した。その結果、シッカニンは熱帯熱マラリア原虫の増殖を μM オーダーで阻害した。
4. シッカニンがマラリア原虫の複合体 II を阻害することで、原虫の増殖を阻害するか複合体 II の基質であるコハク酸及びフマル酸の添加によるレスキュー実験により検討した。その結果、複合体 II の基質を添加してもシッカニンの阻害効果を打ち消すことができなかった。さらに、複合体 II の遺伝子破壊株を用いて、シッカニンの阻害効果を検討した。その結果、シッカニンは複合体 II 遺伝子破壊株に対しても増殖阻害効果を示した。これらの結果により、シッカニンの増殖阻害は複合体 II の活性阻害とは異なる作用機序を持つことが明らかになった。
5. シッカニンの原虫に対する増殖阻害効果の作用機序は、キノンの酸化還元に関わり増殖に必要な複合体 III と考え、シッカニンが複合体 III を阻害するか否かを Dihydroorotate-cytochrome *c* reductase 活性を用いて検討した。その結果、シッカニンはマラリア原虫の複合体 III を μM オーダーで阻害した。この結果より、シッカ

ニンは複合体 II だけではなく複合体 III も阻害することが示された。

6. 複合体 II の阻害剤であるシッカニンと既存の抗マラリア薬で複合体 III の阻害剤であるアトバコンを組み合わせることで、熱帯熱マラリア原虫の増殖阻害効果が増大するかイソボログラム解析により解析した。その結果、シッカニンはアトバコンに対して相加効果を示した。また、この解析によりシッカニンはアトバコンと同様に電子伝達系の酵素を阻害しているが、その作用機序が異なることを示している。すなわち、複合体 II が赤内型で機能している可能性が示唆された。

以上、本論文はシッカニンが熱帯熱マラリア原虫の複合体 II を nM オーダーで阻害する初めての阻害剤であることを示した。そして、シッカニンを用いた解析により、マラリア原虫の複合体 II はキノン結合部位を二つ持ち、逆反応である QFR 活性を持つ可能性を示した。またシッカニンは熱帯熱マラリア原虫の増殖に必要不可欠である複合体 III も阻害する阻害剤であることを明らかにした。マラリア原虫の複合体 II の解析を行う強力なツールであるシッカニンを見出し、また複合体 II と複合体 III を同時に阻害することで、症状を引き起こす赤内型だけではなく伝播に重要な蚊ステージを標的とした抗マラリア薬の開発に貢献する可能性が考えられ、これらの成果は学位の授与に値するものと考えられる。