

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名

レクエンコ フランセス カガヤット

マラリアは世界三大感染症の一つにも数えられる原虫感染症で、熱帯地方を中心に多くの死者が出ている。死亡者の多くは、免疫力の弱い乳幼児と老人である。既存のマラリア薬であるキニーネ、アルテミシニン等に耐性を持った虫体が多く出現するようになり、世界規模で大きな問題となっている。新規薬剤、原虫ワクチン、媒介蚊の駆除を目的とした殺虫剤、新しい治療法の開発等が世界規模で行われているが、マラリアの根絶には至っておらず、原虫ワクチンにおいては認可に至ったものも未だ存在しないのが現状である。抗マラリア薬の多くは臨床症状へとつながる赤内期を標的としていることから、原虫の赤血球侵入のステージがワクチンや薬剤の標的として現在重要視されていることがわかる。硫酸化多糖類であるヘパリンがマラリア原虫の赤血球侵入を阻害することが知られているが、抗凝固反応を持つためマラリアの臨床には使用ができない。海藻からとれるカラギーナン等の他の硫酸化多糖類についても同様にマラリアの増殖阻止に効果があることが *in vitro* で示されている。しかし、*in vivo* での効果についてはいまだ詳細には解析されていない。本論文では、微生物由来の硫酸化多糖類であるジェランガムから作製した硫酸化ジェランとカラギーナンの派生体を用いて、*in vitro* と *in vivo* においてマラリアの増殖と赤血球侵入への効果を解析した。

第一章においては、作製した硫酸化ジェランと過硫酸化κ-カラギーナンの硫酸化度について核磁気共鳴分析法及び元素分析で確認を行った。λ-カラギーナンについては加水分解したものを作製した。硫酸化ジェランについては *P. falciparum* の赤血球侵入と増殖を阻止することが示された。さらに、硫酸化ジェランは、細胞毒性、抗凝固作用ともに低いことを見出した。一方、過硫酸化κ-カラギーナン、加水分解したλ-カラギーナン、未修飾のジェランガムは、有意な阻止効果を示さなかった。

第二章においてローデントマラリア系を用いた *in vivo* での解析を行った。BALB/c、C57BL/6 マウスに致死量の *P. yoelii* 17XL 株、*P. berghei* ANKA 株をそれぞれ感染させ、*in vivo* での原虫の増殖阻止試験を行った。現行のマラリア治療薬であるアルテミシニン（20mg/kg）を陽性対照として、硫酸化ジェランと未修飾のジェランガムを用いて、20、25、50mg/kg に薬剤濃度を振り分けて、それぞれマウスに腹腔内接種することで解析を行った。この結果、硫酸化ジェランと未修飾のジェランガムともに *in vivo* のローデントマラリア系においては増殖阻止効果は低く、生存率の向上も少なかった。

カラギーナンは *in vitro* で熱帯熱マラリア原虫の増殖や赤血球侵入を阻止することが報告されている。しかし、λ-カラギーナンをラットに投与した場合に血液―脳関門の透過性を増加させ

ることも報告されている。従って、マラリアについてカラギーナンを処方することは、脳マラリアにつながる可能性がある。第三章では、通常感染では脳マラリアを形成しにくい BALB/c マウスにおける脳マラリアの発症に対するカラギーナンの影響について、実験的に脳マラリアを引き起こす標準株である *P. berghei* ANKA 株を用いて解析を行った。この結果、*P. berghei* ANKA 株に感染させ、 λ -カラギーナンを投与した BALB/c マウスにおいて、脳マラリアの形成と臨床症状が見られた。さらに、脳切片の肉眼所見や病理像においても、脳マラリアの発現が見られた。

以上のように、本研究ではマラリアの新規の薬剤標的候補分子として硫酸化多糖類に着目し、その効果について *in vitro* の細胞培養系と *in vivo* のローデントマラリア系で解析を行った。特に硫酸化ジェランについては *P. falciparum* の赤血球侵入と増殖を阻止することを見出し、細胞毒性和抗凝固性が無いことを明らかにしていることから、生物学としての学術上および薬剤開発という社会意義について貢献が大きい。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値のあるものと認めた。