博士（獣医学）　津　田　明　子

学 位 論 文 題 名

Studies on the development of programmed cell death and drug resistance in *Trypanosoma brucei*

（*Trypanosoma brucei* における programmed cell death の発生と薬剤耐性との関連性についての研究）

学位論文内容の要旨

Trypanosoma brucei はアフリカのサハラ砂漠以南に存在する眠り病（人）やナガナ（家畜）の病原体であるが、貧困な地域でのみ流行している疾病のため、薬剤の開発などが遅れている。さらに従来使用していた薬剤に対する耐性も発生し、新しい薬剤の開発や薬剤耐性メカニズムの解明が望まれている。本研究は *T. brucei* における薬剤耐性機構解明を目的に Programmed cell death(PCD)を関連させ検討を行なった。

PCD はアポトーシスとほぼ同義であり、多細胞生物の生体恒常性維持、免疫、発生などにおいて重要な役割を果たす。単細胞生物における PCD の生物学的意義は十分には解明されていないが、群全体にとっての利益のために個を殺す利他的行為なのではないかと推測されている。*T. brucei* においても薬剤添加、レクチンなどによる PCD の発生が報告されている。本研究では高密度培養条件下において *T. brucei* 血流型に PCD が発生することを見い出した。また低温ストレスをかけることによって、PCD の発生が抑制されるとともに、trypanosome alternative oxidase（TAO）の発現が上昇することが明らかとなった。

TAO はミトコンドリア内膜に存在するシアン耐性酸化酵素であり、血流型 *T. brucei* のグリコソームで生じた NADH を酸化し、細胞内レドックス環境の調節を行なうと考えられている。植物における alternative oxidase（AOX）は低温ストレスにより発現が上昇したり、また AOX を欠損させると PCD が発生し、逆に過剰発現させると PCD が抑制されることが報告されている。これと同様のことが *T. brucei* にも当てはまるのではないかと推測し、低温ストレス条件下で PCD が抑制されている *T. brucei* に TAO の特異的阻害剤を添加したところ、PCD が発生することが明らかとなった。さらに TAO を過剰発現する遺伝子組み換え *T. brucei* を作製し高密度条件下で培養を行なったところ、野生株よりも PCD の発生率が低かった。このことから TAO を過剰発現することにより PCD に対して耐性を獲得することが示唆された。

癌細胞などでは PCD の抑制と薬剤耐性に関連があることが判明している。そこで TAO の過剰発現株における抗トリパノソーマ薬に対する感受性の変化を検討した。その結果、suramin, antrycide の２種の抗トリパノソーマ薬において TAO 過剰発現株が野生株に比べて高い抵抗性を示すことが判明した。*T. brucei* において PCD の抑制と薬剤耐性の間に関連性が存在することが示唆された。

学位論文審査の要旨

主　査　教　授　小　沼　　操
副　査　教　授　片　倉　　賢
副　査　助教授　奥　　祐三郎
副　査　助教授　大　橋　和　彦

学位論文題名

Studies on the development of programmed cell death and drug resistance in *Trypanosoma brucei*

(*Trypanosoma brucei* における programmed cell death の発生と薬剤耐性との関連性についての研究)

Trypanosoma brucei はアフリカのサハラ砂漠以南に存在する眠り病（人）やナガナ病（家畜）の病原体である。*T. brucei* に対しては、薬剤の開発などが遅れているうえ、薬剤に対する耐性も発生しているため、新しい薬剤の開発や薬剤耐性メカニズムの解明が望まれている。本研究は *T. brucei* における薬剤耐性機構と Programmed cell death(PCD)との関連を検討した。

PCD はアポトーシスとほぼ同義であり、多細胞生物の生体恒常性維持、免疫、発生などにおいて重要な役割を果たす。一方、単細胞生物の PCD については、その生物学的意義は十分には解明されていないが、群全体にとっての利益のために個を殺す利他的行為なのではないかと推測されている。本研究では高密度培養条件下において *T. brucei* 血流型に PCD が発生することを見い出した。また低温ストレスをかけることによって、PCD の発生が抑制されるとともに、trypanosome alternative oxidase（TAO）の発現が上昇することを明らかにした。

植物における alternative oxidase（AOX）は低温ストレスにより発現が上昇したり、また AOX を欠損させると PCD が発生し、逆に過剰発現させると PCD が抑制されることが報告されている。これと同様のことが *T. brucei* にも当てはまるのではないかと推測し、低温ストレス条件下で PCD が抑制されている *T. brucei* に TAO の特異的阻害剤を添加したところ、PCD が発生した。さらに TAO を過剰発現する遺伝子組み換え *T. brucei* を作製し高密度条件下で培養を行なったところ、野生株よりも PCD の発生率が低かった。このことから TAO を過剰発現することにより PCD に対して耐性を獲得することが示唆された。

また、癌細胞などでは PCD の抑制と薬剤耐性に関連があることが判明している。そこで TAO の過剰発現株における抗トリパノソーマ薬に対する感受性の変化を検討し、suramin, antrycide の２種の抗トリパノソーマ薬において TAO 過剰発現株が野生株に比べて高い抵抗性を示すことを明らかにした。これは、*T. brucei* において PCD の抑制と薬剤耐性に関連があることを示唆している。

本研究により、*T. brucei* においてPCD発現と薬剤耐性機構が関連することが明らかとなった。よって、審査委員一同は、津田明子君の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。