

16
(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

INHIBITION OF INTRACELLULAR PROLIFERATION OF *LEISHMANIA*
PARASITES *IN VITRO* AND SUPPRESSION OF SKIN LESION DEVELOPMENT IN
BALB/C MICE BY A NOVEL LIPID A ANALOG (ONO-4007)

(Lipid A Analog (ONO-4007) による *Leishmania* 原虫の細胞内増殖
の抑制および BALB/c マウスにおける皮膚病変形成抑制)

氏 名 KHAN MOHAMMED



(直 筆) ABUL KASEM

目的

新しい合成脂質化合物の一種である ONO-4007 は TNF- α 腫瘍内産生により抗腫瘍効果を有することが知られている。ONO-4007 の *Leishmania* 原虫の増殖抑制効果と BALB/c マウスの皮膚病変形成抑制効果を検討した。

方法

1) *In vitro* study : *Leishmania major* (*L. major*)、*Leishmania amazonensis* (*L. amazonensis*) を用いてマクロファージ J774 細胞に感染させた。その培養系に ONO-4007 を 0.01 mg / ml ~ 100 mg / ml を培養液中に加えて培養液の原虫数を顕微鏡下で計測、TNF- α 濃度を ELISA にて測定、マクロファージの形態変化を電顕を用いて観察した。

2) *In vivo* study : BALB/c マウスの尾根部にリーシュマニア原虫を注射し、皮膚病変を作製した。感染が成立し 5 週間後に皮膚病

変が確認されたところで感染マウスに ONO-4007 を 30 mg / kg 局注および腹腔注を 1 週間に 2 回 8 週間行ない対照マウスと比較した。

結果

1) ONO-4007 の抗リーシュマニア原虫効果

① 0.01 ~ 1.00 mg / ml の ONO-4007 は *L. major*、*L. amazonensis* promastigotes の増殖能をいずれも抑制した。

② リーシュマニア原虫とマクロファージの同時培養を行なうと 24 時間 promastigotes 数は約 80% 減少した。

③ リーシュマニア原虫とマクロファージ同時培養後 ONO-4007 を加えると 0.01 mg / ml ~ 1.00 mg / ml いずれも 6 時間後 TNF- α の産生が著明となり 0.1 mg / ml 濃度群が最も高値を示した。12 ~ 24 時間ではその濃度は低下した。非添加群では全く産生が認められなかった。

④ ONO-4007 を加えた培養系のマクロファ

ー ジ の 細 胞 質 で は 大 き な *parasitophorus vacuoles* が 認 め ら れ 、 そ の 中 に 多 数 の 原 虫 が 認 め ら れ た 。 一 方 *ONO-4007* を 加 え た 培 養 系 の マ ク ロ フ ァ ー ジ で は *parasitophorus vacuoles* が 小 さ く 原 虫 の 数 も 少 な か っ た 。 原 虫 自 体 も 変 性 し て い た 。

2) *L. amazonensis* 感 染 マ ウ ス に 対 す る *ONO-4007* の 効 果 : 対 照 液 を 局 注 あ る い は 腹 腔 注 群 で は 全 マ ウ ス で 病 変 の 拡 大 が み ら れ た 。 *ONO-4007* 局 注 あ る い は 腹 腔 注 群 で は 病 変 の 拡 大 が 抑 制 さ れ る 傾 向 が み ら れ 特 に 局 注 群 で は 有 意 に 抑 制 さ れ て い た 。

結 論

ONO-4007 に 抗 リ ー シ ュ マ ニ ア 効 果 を 有 す る 事 が *in vitro*、 *in vivo study* で 証 明 さ れ た 。 そ の 作 用 機 序 は *ONO-4007* が マ ク ロ フ ァ ー ジ を 活 性 化 し 、 原 虫 の 増 殖 を 抑 制 し て い る も の と 考 え た 。 ま た 本 物 質 が リ ー シ ュ マ ニ ア 症 の 治 療 に 用 い ら れ る 可 能 性 が 示 唆 さ れ た 。

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏 名	KHAN MOHAMMED ABUL KASEM
		平成 14年 12月 27日		
論文審査委員	主査教授	渡部久実		(印)
	副査教授	岩永正明		(印)
	副査教授	佐藤良也		(印)
(論文題目)				
INHIBITION OF INTRACELLULAR PROLIFERATION OF <i>LEISHMANIA</i> PARASITES <i>IN VITRO</i> AND SUPPRESSION OF SKIN LESION DEVELOPMENT IN BALB/C MICE BY A NOVEL LIPID A ANALOG (ONO-4007)				
(論文審査結果の要旨)				
<p>上記の論文に対し、その研究に至る背景、論文の内容とその学術的水準、研究の成果とその意義などを慎重に審査し、次のような審査結果を得た。</p>				
<p>1. 研究の背景と目的</p> <p>リーシュマニア症は世界的な感染症として知られているが、その治療薬としては強い副作用をもたらすアンチモニ製剤が使用されており、より安全性の高い化学療法の開発が求められている。本研究では、新しい合成脂質化合物の一種であるONO-4007が、TNF-α産生誘導による抗腫瘍活性などの免疫賦活作用を有することから、感染症への応用を目的とし、ONO-4007の<i>Leishmania</i>原虫の<i>in vitro</i>での増殖抑制効果とマウスでの皮膚病変形成抑制効果を検討した。</p>				
<p>2. 研究内容</p> <p>方法は<i>in vitro</i>と<i>in vivo</i>の2つの実験系を用いた。<i>in vitro</i>の系では、<i>Leishmania major</i>と<i>Leishmania amazonensis</i> promastigotesの培養系にONO-4007を0.01mg～1.00mg/mlを培養液中に加え、培養液中の原虫数を顕微鏡下で計測した。次に、原虫をマクロファージ細胞株J774に感染させ、培養液中のTNF-α濃度をELISAにて測定すると共に、マクロファージ内原虫の形態変化を電顕にて観察している。<i>in vitro</i>の系では、BALB/cマウスの尾根部にリーシュマニア原虫を注射し、皮膚病変を作製した。感染5週間後に皮膚病変形成が確認されたところで、感染マウスにONO-4007を30mg/kg局注および腹腔注を1週間に2回8週間行ない、病変部の大きさを対照マウスと比較している。</p>				

- 備 考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。

その結果、*in vitro*でのONO-4007の抗リーシュマニア原虫効果は、0.01mg~1.00mg/mlの濃度で*L.major*と*L.amazonensis* promastigotesの増殖能をいずれも抑制した。リーシュマニア原虫とマクロファージの同時培養後、ONO-4007を加えると0.01mg~1.00mg/mlいずれの濃度でも6時間後にTNF- α 産生が著明となった。一方、非添加群では産生が認められなかった。電顕観察からは、ONO-4007非添加マクロファージ細胞質内の大きなparasitophorus vacuoles中に多数の原虫が見られたが、ONO-4007非添加マクロファージではparasitophorus vacuolesが小さく原虫数の減少と虫体変性が認められた。*L.amazonensis*感染マウスに対するONO-4007の効果は、局注あるいは腹腔注群では病変の拡大が抑制される傾向がみられ、特に局注群では有意に抑制されていた。

3.研究成果の意義と学術的水準

新規合成脂質化合物であるONO-4007が抗リーシュマニア症効果を有する事を*in vitro*と*in vivo*実験系で明らかにした。その作用機序としては、ONO-4007がマクロファージを活性化し原虫の増殖を抑制しているものと考えた。本論文はリーシュマニア原虫の増殖抑制と病変の発現抑制効果をONO-4007が有していることを示した最初の論文であり、リーシュマニア症に対する新しい化学療法への可能性を示唆している。

以上により、本論文は学位授与に十分値する内容であると判断した。