

令和2年8月26日

学 長 殿

主 査 玄 学南



学位論文審査の要旨及び結果並びに試験の
結果について（報告）

令和2年7月17日付けで依頼されました下記の者の学位論文審査
の要旨及び結果並びに試験の結果を別紙1及び別紙2のとおり報告します。

記

専 攻 畜産衛生学専攻（博士後期課程）

氏 名 Jixu LI

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻 (博士後期課程)
氏名	Jixu LI
審査委員署名	主査 <u>玄 浩南</u> 副査 <u>西川 義文</u> 副査 <u>五十嵐 慎</u> 副査 <u>河津 信一郎</u> 副査 <u>小川 晴子</u>
題目	Functional characterization of aspartate aminotransferase from <i>Toxoplasma gondii</i> (トキソプラズマのアスパラギン酸アミノ基転移酵素の機能解析)
審査結果の要旨 (1,000 字程度)	

トキソプラズマは、ネコ科動物を終宿主とし、ヒトや他の動物を中間動物とする原虫である。この原虫の感染を起因とするトキソプラズマ症、世界中広く分布している人獣共通感染症であり、ヒトの健康や動物生産に危害を及ぼす。今のところトキソプラズマ症に対する有効なワクチンはなく、ピリメタミンとサルファ剤の併用による治療法が一般的である。しかし、この治療法には副作用や薬剤耐性の問題が指摘されている。そこで、本研究では新規治療法開発を目的に、トキソプラズマのアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AAT) の機能と AAT の酵素阻害剤の虫体増殖抑制効果について解析を行った。

第1章では、トキソプラズマの I 型 RH 株と II 型 PLK 株の AAT 遺伝子について分析した。AAT 遺伝子は 1794 塩基からなり、597 アミノ酸をコードすることが判明した。アミノ酸レベルで、ヒトやマウス由来の AAT とは 46% の相同性を示した。組換え TgAAT は、予想通りアスパラギン酸を基質としたアミノ基転移反応を触媒し、マラリア原虫で得られた知見と一致した。さらに、AAT の酵素阻害剤として知られるヒドロキシルアミン (HYD) とカルボキシメトキシルアミン (CAR) は、組換え TgAAT の酵素活性を阻害することを証明した。これらの結果より、HYD と CAR はトキソプラズマ虫体の増殖を抑制する可能性が示唆された。

第2章では、トキソプラズマ虫体における AAT 遺伝子の機能解析を行った。CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集法により、AAT 遺伝子欠損株と AAT 復帰した株をそれぞれ作製した。AAT 欠損株は、試験管内培養において野生型と比較し、その増殖性が著しく低下した。この増殖性の低下は、AAT 遺伝子復帰株では完全に回復した。また、AAT 欠損株の増殖性の低下は、 α -ケトグルタル酸の添加により回復した。一方、AAT 欠損株はマウスの体内においては、野生型と比較し虫体の増殖性に顕著な低下は認められなかった。これらの結果により、AAT が司る代謝経路はトキソプラズマの試験管内増殖において重要な役割を果たすことが示唆された。

第3章では、AAT の酵素阻害剤である HYD と CAR の虫体増殖抑制作用を調べた。両阻害剤とも、試験管内において虫体の増殖を抑制した。また、マウス体内においても虫体の増殖を顕著に抑制した。しかしながら、AAT 遺伝子欠損株においても、これらの原虫増殖抑制作用が顕著に減弱しないことから、HYD と CAR のトキソプラズマ増殖抑制作用は、AAT 非依存的であることが示唆された。今後、AAT の他の阻害剤の探索や HYD と CAR の作用機序の解明が必要である。

以上のように、本研究ではトキソプラズマの AAT を初めて特定し、ゲノム編集法を用いてその機能解析を行った。その結果、AAT はトキソプラズマの増殖に重要な役割を果たすことが判明した。また、AAT の酵素阻害剤である HYD と CAR はトキソプラズマの治療薬候補となり得ることが示唆された。今後は、HYD と CAR の作用機序のさらなる解明が求められる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

題 目 Hydroxylamine and carboxymethoxylamine can inhibit *Toxoplasma gondii* growth through aspartate aminotransferase-independent pathway
著 者 Jixu Li, Huanping Guo, Eloiza May Galon, Seung-Hun Lee, Mingming Liu, Yongchang Li, Shengwei Ji, Honglin Jia, Xuenan Xuan
学術雑誌 Antimicrobial Agents and Chemotherapy
(巻・号・頁) (64 巻・3 号・e01889-19 頁)
発行年月 2020 年 3 月

(別紙2)

最終試験の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻（博士後期課程）
氏名	Jixu LI
審査委員署名	主査 李学南 副査 西川義文 副査 五十嵐慎 副査 河津信一郎 副査 小川 晴子
実施年月日	令和2年8月25日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと)	<input checked="" type="radio"/> 口頭 <input type="radio"/> 筆記
要 旨	
<p>主査および副査の5名は、学位申請者に対し、原虫病研究センターPKホールにおいて、学位申請者本人に口頭により学位論文内容の説明を行わせ、その内容について質疑応答を行った。また、関連する専門知識について口頭により試問を行った。</p> <p>その結果、申請者は、帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程畜産衛生学専攻修了者としての学力および見識を有するものと認め、博士（畜産衛生学）の学位を与えるに十分な資格を有すると判定した。</p>	