



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Prostaglandin production from arachidonic acid and evidence for a 9, 11-endoperoxide prostaglandin H2 reductase in Leishmania                   |
| Author(s)    | Kabututu, Zakayi                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 2002, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/43870">https://hdl.handle.net/11094/43870</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | カブツツ      ザカイ<br>KABUTUTU, ZAKAYI                                                                                                                                                                                                   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                           |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 7 2 7 2 号                                                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 14 年 9 月 17 日                                                                                                                                                                                                                    |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>医学系研究科分子病態医学専攻                                                                                                                                                                                                  |
| 学 位 論 文 名     | Prostaglandin production from arachidonic acid and evidence for a 9,11-endoperoxide prostaglandin H <sub>2</sub> reductase in <i>Leishmania</i><br>(リーシュマニアにおけるアラキドン酸からのプロスタグランジン生成とプロスタグランジン H <sub>2</sub> 9,11-エンドパーオキシド還元酵素の存在) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 裏山 良博<br>(副査)<br>教 授 堀井 俊宏      教 授 本田 武司                                                                                                                                                                               |

### 論 文 内 容 の 要 旨

Protozoa of the order kinetoplastida (*Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*) are causative agents of life-threatening, parasitic diseases in humans and cattle. In mammals, infections with these parasitic protozoa are characterized by pathophysiologic manifestations that are mainly associated with inflammation caused by lipid mediators such as prostaglandins (PGs). Although the occurrence of these molecules has been investigated extensively in the mammalian hosts, little is known about their production in parasitic protozoa. I investigated PG synthesis in these organisms since parasite derives PGs may, in part, be involved in the pathophysiologic processes during infections.

In the present thesis, I demonstrate that *T. brucei*, *T. cruzi*, and *L. donovani* synthesize PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2α</sub> from arachidonic acid as quantified by enzyme immunoassay and gas chromatography-mass spectrometry, and that the mechanisms involved in this synthesis appear to differ among the protozoan parasites. I identified and purified PGF<sub>2α</sub> synthases from *T. brucei*, *Leishmania* species, and *T. cruzi* cell lysates using standard purification methods, cloned their cDNAs, and overexpressed heterologously the recombinant enzymes. Sequence alignment showed that the *T. brucei* enzyme exhibits 61% identity with *Leishmania* species PGF<sub>2α</sub> synthases. Phylogenetic analysis showed that *T. brucei* and *Leishmania* species PGF<sub>2α</sub> synthases belong to the Aldo/Keto Reductase superfamily, whereas *T. cruzi* enzyme was found to be a flavoprotein, which in addition to catalyzing PGF<sub>2α</sub> synthesis, plays a key role in the metabolism of trypanocidal drugs by catalyzing the one-electron reduction of menadione and β-lapachone to semiquinone-free radicals with concomitant generation of superoxide radical anions as demonstrated by electron spin resonance, while catalyzing solely the two-electron reduction of nifurtimox and 4-nitroquinoline-N-oxide drugs without free radical production.

Taken together, the present thesis gives an insight into PG production as well as the enzymatic machinery of PGF<sub>2α</sub> synthesis in trypanosomatids. The identification of PG-synthesizing enzymes and their genes in these

organisms provides a molecular basis for further investigation of the role of parasite-derived PGs in the modulation of inflammatory responses during infections.

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、アフリカ睡眠病、リーシュマニア症、ジャーガス病の病原虫である *Trypanosoma brucei*、*Leishmania major*、*T. cruzi* などのキネトプラスチド属の原虫が、ヒトと薬剤感受性の異なるプロスタグランジン生合成系をもつことを証明した。さらに、これら3種類の寄生原虫のプロスタグランジン  $F_2\alpha$  合成酵素の精製と cDNA クローニングを行ない、*T. brucei* と *L. major* のプロスタグランジン  $F_2\alpha$  合成酵素がアルド・ケト還元酵素遺伝子ファミリーに属し、一方、*T. cruzi* のプロスタグランジン  $F_2\alpha$  合成酵素が旧黄色酵素遺伝子ファミリーに属するフラビン蛋白質であることを証明した。そして、これらの原虫のプロスタグランジン  $F_2\alpha$  合成酵素について、大腸菌を用いたリコンビナント酵素の大量発現と特異的な抗体の調製を行なった。

これらの研究成果は、プロスタグランジン生合成経路及び寄生虫の宿主免疫からの防御に関する従来の定説を覆す発見であり、同時に、アフリカ睡眠病、リーシュマニア症、ジャーガス病に対する医薬品の開発や診断法の開発に重要な貢献をする研究業績として高く評価でき、学位の授与に値する。