

## 特別講演

ZOOM Webinar 会場 2020年6月20日 13:30～14:30  
座長：見尾 光庸（就実大学薬学部薬効解析）

### 特別講演 在宅医療における薬理学の役割

○狭間 研至<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ファルメディコ株式会社、<sup>2</sup>医療法人嘉健会思温病院、<sup>3</sup>一般社団法人日本在宅薬学会



狭間研至（はざま けんじ）

昭和44年 大阪生まれ

ファルメディコ株式会社 代表取締役社長

一般社団法人 日本在宅薬学会 理事長

医療法人嘉健会 思温病院 理事長・院長

熊本大学薬学部・熊本大学大学院薬学教育部 臨床教授

京都薬科大学 客員教授 北海道医療大学 客員教授

就実大学 客員教授

平成7年大阪大学医学部卒業後、大阪大学医学部付属病院、大阪府立病院  
(現 大阪急性期・総合医療センター)、宝塚市立病院で外科・呼吸器外  
科診療に従事。

平成12年大阪大学大学院医学系研究科臓器制御外科にて異種移植をテーマとした研究および臨床業務に携わる。平成16年同修了後、現職。

医師、医学博士、一般社団法人日本外科学会認定登録医。

現在は、地域医療の現場で医師として診療も行うとともに、一般社団法人 薬剤師あゆみの会・一般社団法人 日本在宅薬学会の理事長として薬剤師生涯教育に、多数の大学薬学部での非常勤講師として薬学教育にも携わっている。

#### 著書：

薬剤師3.0（薬事日報社）

薬局マネジメント3.0（評言社）

薬局が変われば地域医療が変わる（じほう）

薬剤師のためのバイタルサイン（南山堂）

薬局3.0（薬事日報社）

外科医 薬局に帰る（薬局新聞社）

がんにならるのは、どっち（泰文堂）など

#### 共著：

在宅医療のKEY&NOTE（薬ゼミファーマブック）

臨床調剤学（南山堂）

薬物治療学（化学同人）

新IT医療革命（アスキー新書）

ITが医療を変える

（アスキー・メディアワークス）など

## 一般演題【中枢神経】

### P-01 意思決定異常に対する創薬標的：バレニクリンの有効性

○溝口 博之<sup>1</sup>、山田 清文<sup>2</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・環境医学研究所・附属次世代創薬研究センター、<sup>2</sup>名古屋大・院医・医療薬学・附属病院薬剤部

### P-02 半側性パーキンソン病モデルラットにおけるドパミン神経細胞死に対する5-アミノレブリン酸の抑制作用

○北村 佳久<sup>1</sup>、肱岡 雅宣<sup>1</sup>、北村 叶里<sup>1</sup>、柳沢 大治郎<sup>2</sup>、西村 周泰<sup>3</sup>、高田 和幸<sup>3</sup>、位田 雅俊<sup>4</sup>

<sup>1</sup>立命館大・薬・薬効解析、<sup>2</sup>滋賀医大・神經難病研、<sup>3</sup>京都薬大・統合薬科学、<sup>4</sup>岐阜薬大・薬物治療

### P-03 ヒスタミンH<sub>2</sub>受容体作用薬 amthamineによる頭部外傷後のBlood-brain barrier破綻に対する抑制効果

○道永 昌太郎、園田 清美、井ノ上 彩奈、水口 博之  
大阪大谷大・薬

### P-04 睡眠導入薬によるイソフルラン麻酔の延長作用に及ぼす睡眠・覚醒状態の影響

○居場 嘉教、堀口 峻平、村居 宏樹、菅野 篤信  
摂南大・理工

### P-05 HMGB1 Translocation in Neurons after Ischemic Insult: Subcellular Localization in Mitochondria and Peroxisomes

○王 登莉、劉 克約、勅使川原 匡、和氣 秀徳、西堀 正洋  
岡山大・院医歯薬

## 一般演題【末梢神経・血液・呼吸器・歯科】

### P-06 炎症における末梢性グルタミン酸受容体を介した痛覚応答の増強

○益岡 尚由、中野 克哉、山下 優香、五十嵐 愛、田和 正志、何 強、村松 郁延、  
石橋 隆治  
金沢医科大・医

### P-07 活性酸素種による聴覚伝達障害機序の解明

○鈴木 俊章、陳 林、足立 直子、齋藤 尚亮、上山 健彦  
神戸大・バイオシグナル研・分子薬理

### P-08 三種混合麻酔はアドレナリン $\alpha_2$ 刺激を介して血小板凝集を増強する

○近藤 一直、狩野 泰輝、菅沼 由唯、池本 和久、一瀬 千穂  
藤田医科大・医・薬理

### P-09 脳卒中易発症性高血圧ラットにおいて血小板容積とリンパ球数の変化は脳卒中発症を予測するバイオマーカーである

○西中 崇<sup>1</sup>、ハティポール オメルファルク<sup>1</sup>、和氣 秀徳<sup>2</sup>、森 秀治<sup>3</sup>、西堀 正洋<sup>2</sup>、  
高橋 英夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>近畿大・医・薬理、<sup>2</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学、<sup>3</sup>就実大・薬・生体情報学

### P-10 肺線維症で増加するGrowth/differentiation factor 15 (GDF15) はマクロファージと線維芽細胞を活性化する

○竹之内 康広、嶋田 大雅、北風 圭介、坪井 一人、岡本 安雄  
川崎医科大・医

### P-11 口唇口蓋裂新規関連遺伝子の同定と機能解析

○安達 優華、白水 崇、小岩 純子、西村 有平  
三重大・医・統合薬理学

## 一般演題【免疫・細胞・皮膚】

### P-12 新規ビベンジル化合物による肥満細胞の脱顆粒に対する抑制機序

○浅井 遥<sup>1</sup>、青井 萌華<sup>1</sup>、熊澤 黎香<sup>1</sup>、宮坂 真由<sup>1</sup>、鈴木 萌<sup>1</sup>、高橋 美怜<sup>1</sup>、  
宮田 恵里花<sup>1</sup>、長島 史裕<sup>2</sup>、福石 信之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>金城学院大・薬、<sup>2</sup>第一薬科大

### P-13 L-アスパラギナーゼアレルギーにおける抗体産生へのシクロホスファミドの影響

○原（野上）愛<sup>1</sup>、堀 優太<sup>1</sup>、光畠 知恵<sup>1</sup>、梶山 光司<sup>1</sup>、須々木 健太郎<sup>1</sup>、嶋田 明<sup>2</sup>、  
見尾 光庸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬・薬効解析学、<sup>2</sup>岡大病院・小児・血液腫瘍科

### P-14 タバコ煙中の成分が Pdcd4 タンパク質発現量および遊走能に及ぼす影響とその 機序

○西風 香那<sup>1</sup>、吉川 紀子<sup>1</sup>、陳 佳佳<sup>1</sup>、岩田 恵理子<sup>1</sup>、籠田 智美<sup>2</sup>、篠塚 和正<sup>2</sup>、  
中村 一基<sup>1</sup>

<sup>1</sup>武庫川女子大・薬・薬理学Ⅰ、<sup>2</sup>武庫川女子大・薬・薬理学Ⅱ

### P-15 AGEs の共存が DAMPs の作用に与える影響の検討

○渡邊 政博<sup>1</sup>、豊村 隆男<sup>1</sup>、和氣 秀徳<sup>2</sup>、劉 克約<sup>2</sup>、勅使川原 匡<sup>2</sup>、高橋 英夫<sup>3</sup>、  
西堀 正洋<sup>2</sup>、森 秀治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬、<sup>2</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学、<sup>3</sup>近畿大・医・薬理学

### P-16 New compounds for atopic dermatitis promote selective AHR-induced Filaggrin transcription in NHEK cells

○樋口 牧郎、タムケオ ディーン、成宮 周

京都大・院医・創薬医学講座

## 学生優秀発表賞（YIA） - 1 【中枢神経①】

### Y-01 母体のDHA摂取による仔の熱性けいれん感受性の低下

○川野 真慈<sup>1</sup>、馬場 直道<sup>2</sup>、対馬 忠広<sup>2</sup>、三澤 嘉久<sup>2</sup>、石原 康宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・大学院総合科学研究所・生体機能化学、<sup>2</sup>備前化成株式会社・油脂開発部

### Y-02 Rhoキナーゼ阻害剤FasudilはMK-801誘発性行動障害を改善する

○高瀬 涼子<sup>1</sup>、澤幡 雅仁<sup>1</sup>、劉 玥<sup>1</sup>、祖父江 顕<sup>1</sup>、宮川 泰宏<sup>1</sup>、永井 拓<sup>1</sup>、鍋島 俊隆<sup>2</sup>、山田 清文<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・院医・医療薬学・病院薬剤部、<sup>2</sup>藤田医科大・院医療科学・先進診断システム探索

### Y-03 カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）脳室内投与によるマウスの恐怖記憶保持への影響

○下西 陽大<sup>1</sup>、安藤 浩輝<sup>2</sup>、橋川 直也<sup>3</sup>、橋川 成美<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、<sup>2</sup>岡山理科大学、<sup>3</sup>岡山理科大学、<sup>4</sup>岡山理科大学

### Y-04 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)が起こす恐怖記憶抑制作用におけるProtein kinase Dの関与

○奥島 千裕<sup>1</sup>、森本 光未加<sup>2</sup>、橋川 直也<sup>3</sup>、橋川 成美<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、<sup>2</sup>岡山理科大・理、<sup>3</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、

<sup>4</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科

### Y-05 ニコチンによる認知記憶増強作用の神経メカニズム

○江崎 博仁<sup>1</sup>、深尾 朱里<sup>2</sup>、伊藤 志穂<sup>1</sup>、尾崎 翔<sup>1</sup>、堂本 将輝<sup>1</sup>、泉 翔馬<sup>1</sup>、

笹瀬 人暉<sup>1</sup>、西谷 直也<sup>1,2</sup>、出山 諭司<sup>1,2</sup>、金田 勝幸<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>金沢大・院薬・薬理、<sup>2</sup>金沢大・薬・薬理

## 学生優秀発表賞（YIA） - 2 【中枢神経②】

**Y-06 マウスへの微小粒子状物質（PM2.5）曝露による炎症誘発と脳梗塞予後の増悪**

○田中 美樹<sup>1</sup>、伊藤 康一<sup>2</sup>、鍋谷 悠<sup>3</sup>、石原 康宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・大学院統合生命科学・生命医科学、<sup>2</sup>徳島文理大・香川薬・薬物治療学、<sup>3</sup>宮崎大・工学教育研究・環境応用化学

**Y-07 HMGB1 中和抗体の局所投与はマウス遠位眼窩下神経慢性絞扼により発生する顔面感覚異常の発症を予防する**

○河内 貴弘<sup>1,2</sup>、中村 庸輝<sup>1</sup>、中島 一恵<sup>1</sup>、劉 克約<sup>3</sup>、和氣 秀徳<sup>3</sup>、西堀 正洋<sup>3</sup>、入船 正浩<sup>2</sup>、森岡 徳光<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医歯薬保健・薬効解析科学、<sup>2</sup>広島大・院医歯薬保健・歯科麻酔学、<sup>3</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学

**Y-08 脊髄性筋萎縮症におけるミクログリアの役割**

○長内 大樹、安藤 栄、高橋 慶、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰  
岐阜薬科大・薬・薬効解析学研究室

**Y-09 神経細胞のレプチニン抵抗性に対するグリア細胞由来adenosineの影響**

○和田 萌々恵<sup>1</sup>、松浦 武典<sup>1</sup>、細井 徹<sup>2</sup>、柳瀬 雄輝<sup>3</sup>、松崎 周<sup>3</sup>、杉山 礼隆<sup>3</sup>、児玉 尚士<sup>3</sup>、小澤 光一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>広島大・薬・治療薬効学研究室、<sup>2</sup>山陽小野田市立山口東京理科大学・薬・臨床薬理学、

<sup>3</sup>広島大・医系科学研究科・治療薬効学研究室

**Y-10 肥満病態時のレプチニン抵抗性形成へのグリア細胞の役割**

○佐藤 颯斗<sup>2</sup>、細井 徹<sup>3</sup>、長谷川 由貴<sup>2</sup>、松村 奈美<sup>2</sup>、柳瀬 雄輝<sup>1</sup>、小澤 光一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医系科学・治療薬効、<sup>2</sup>広島大・薬・治療薬効、<sup>3</sup>山口東京理科大・薬・臨床薬理

## 学生優秀発表賞（YIA） - 3 【中枢神経③】

**Y-11**

嗜癖／嫌悪の調節における背側縫線核セロトニン神経の役割の解明

○永井 佑菜、高山 海都、安藤 千紘、永安 一樹、白川 久志、金子 周司  
京都大・院薬

**Y-12**

セロトニントランスポーターの機能制御におけるE3ユビキチンリガーゼHRD1の役割

○田口 慧<sup>1</sup>、本池 芹佳<sup>1,2</sup>、金子 雅幸<sup>3</sup>、村川 青矢<sup>1</sup>、原田 佳奈<sup>1</sup>、秀和泉<sup>1</sup>、田中 茂<sup>1</sup>、  
酒井 規雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医歯薬保健・神経薬理学、<sup>2</sup>広島大・院医系科学・歯科麻酔学、<sup>3</sup>広島大・院医系科学・  
分子細胞情報学

**Y-13**

視床後外側腹側核に存在するニコチン性アセチルコリン受容体刺激による神経伝  
達物質放出とその疼痛抑制作用への関与の検討

○小野 晴菜<sup>1</sup>、金城 達弥<sup>1</sup>、御船 正樹<sup>1</sup>、佐治 英郎<sup>2</sup>、上田 真史<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>岡山大・院医歯薬、<sup>2</sup>京都大・院薬

**Y-14**

Behavioral and morphological abnormalities in a mouse model with copy number  
variation of the vasoactive intestinal peptide receptor VIPR2 gene

○陳露<sup>1</sup>、竹内 修斗<sup>2</sup>、山田 めゐ<sup>1</sup>、宮岡 辰典<sup>1</sup>、山口 拓海<sup>1</sup>、中澤 敬信<sup>2,3,4</sup>、  
中川 晋作<sup>1,5</sup>、橋本 均<sup>2,6,7,8,9</sup>、吾郷 由希夫<sup>1,5,10</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院薬・薬剤、<sup>2</sup>大阪大・院薬・神経薬理、<sup>3</sup>大阪大・院歯・薬理、<sup>4</sup>東京農業大・バ  
イオサイエンス・動物分子生物、<sup>5</sup>大阪大・国際医工情報センター、<sup>6</sup>大阪大・院連合小児発  
達、<sup>7</sup>大阪大・データビリティフロンティア機構、<sup>8</sup>大阪大・先導的学際研究機構、<sup>9</sup>大阪大・  
院医・分子医薬、<sup>10</sup>広島大・院医・細胞分子薬理

**Y-15**

社会的敗北ストレスの強さに応じた神経活動変化のイメージング解析

○平戸 祐充<sup>1</sup>、前田 駿介<sup>1</sup>、勢力 薫<sup>1,2</sup>、笠井 淳司<sup>1</sup>、橋本 均<sup>1,3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院薬・神経薬理、<sup>2</sup>大阪大・国際共創、<sup>3</sup>大阪大・院連合小児発達、<sup>4</sup>大阪大・デー  
タビリティフロンティア機構、<sup>5</sup>大阪大・先導的学際研究機構、<sup>6</sup>大阪大・院医・分子医薬

## 学生優秀発表賞（YIA） - 4 【免疫・骨・末梢神経】

### Y-16 ステロイド抵抗性喘息におけるIL-5の役割

○霜良 勇人、橋本 健之介、美奈川 茉里、阿野 理菜、松田 将也、北谷 和之、  
奈邊 健  
摂南大・薬・薬効薬理

### Y-17 Hillの式を利用した破骨細胞分化の数理モデリングおよび破骨細胞分化メカニズムの解析

○泉 和弥<sup>1,2</sup>、安富 栄人<sup>1,2</sup>、竹入 雅敏<sup>3</sup>、野間 成人<sup>3</sup>、肥田 重明<sup>1</sup>、青山 峰芳<sup>1</sup>、  
朝霧 成暉<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>名古屋市立大・院薬、<sup>2</sup>京都大・ウイ再研、<sup>3</sup>京都大・院医、<sup>4</sup>山口大・院医

### Y-18 閉経後骨粗鬆症モデルマウスに対する補中益氣湯含有食の効果について

○落合 信介<sup>1</sup>、山田 孝紀<sup>1</sup>、徳村 和也<sup>1</sup>、尾崎 翔<sup>2</sup>、金田 勝幸<sup>2</sup>、檜井 栄一<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>岐阜薬科大・薬理、<sup>2</sup>金沢大・院薬・薬理

### Y-19 アトルバスタチンによる老化予防効果の可能性について

○林 樹奈<sup>1</sup>、吉井 美智子<sup>2</sup>、小澤 光一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>広島大・薬・治療薬効学研究室、<sup>2</sup>広島大・院医・治療薬効学

### Y-20 大規模医療情報および遺伝子発現データベースを活用した薬剤性末梢神経障害に対する予防薬の探索

○新村 貴博<sup>1</sup>、座間味 義人<sup>1,2</sup>、川尻 雄大<sup>3</sup>、合田 光寛<sup>2</sup>、岡田 直人<sup>2</sup>、萱野 純史<sup>2</sup>、  
八木 健太<sup>4</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、福島 圭穂<sup>5</sup>、石澤 有紀<sup>6</sup>、池田 康将<sup>7</sup>、小林 大介<sup>3</sup>、  
藤野 裕道<sup>5</sup>、島添 隆雄<sup>3</sup>、石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>2</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>3</sup>九州大・院薬・臨床育薬、<sup>4</sup>徳島  
大学病院・総合臨床研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・生命薬理、<sup>6</sup>徳島大・AWA サポー  
トセンター、<sup>7</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

## 学生優秀発表賞（YIA） - 5 【細胞・細胞内小器官】

**Y-21 光誘発角膜上皮細胞障害に対する新規ラジカルスカベンジャーの保護作用**

○石田 純大<sup>1</sup>、矢古宇 智弘<sup>2</sup>、大津 航<sup>1</sup>、中村 信介<sup>2</sup>、嶋澤 雅光<sup>1,2</sup>、角崎 英志<sup>1</sup>、原 英彰<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岐阜薬科大・バイオメディカルリサーチ講座、<sup>2</sup>岐阜薬科大・薬効解析

**Y-22 遊離アミノ酸量の定量的経時変化解析によるアミノ酸トランスポーター阻害効果の検討**

○西窪 航<sup>1</sup>、大垣 隆一<sup>1</sup>、岡西 広樹<sup>1</sup>、奥田 優<sup>1</sup>、金井 好克<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院医・生体システム薬理、<sup>2</sup>大阪大・先端的学際研究機構・生命医科学フロンティア研究部門

**Y-23 分裂酵母モデル系を用いたα-シヌクレイン凝集体形成メカニズムの探索とメンブレントラフィックの関わり**

○杉本 恵崇、高崎 輝恒、佐藤 亮介、濱田 耕造、杉浦 麗子

近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学研究室

**Y-24 DEAD-box型 RNA helicase DDX3/Ded1によるPKC/MAPKシグナル抑制機構の解析**

○富本 尚史、神田 勇輝、Chun An Tsai、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子

近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学

**Y-25 ロテノン誘発ミトコンドリア障害に対する小胞体ストレスの関与**

○青山 八曇、稻垣 賢、岩田 悠暉、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰

岐阜薬科大・薬・薬効解析

## 学生優秀発表賞（YIA） - 5 【心血管・腎泌尿器・消化器】

### Y-26 フルオロロキソプロフェンの小腸粘膜におよぼす影響

○増田 侑哉<sup>1</sup>、加藤 大輔<sup>1</sup>、山川 直樹<sup>2</sup>、水島 徹<sup>3</sup>、天ヶ瀬 紀久子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>立命館大・薬・病態薬理学研究室、<sup>2</sup>就実大・薬、<sup>3</sup>LTTバイオファーマ

### Y-27 フッ素原子に着目した胃潰瘍を起こしにくいNSAIDsの抗炎症効果に関する検討

○藤井 悠太<sup>1</sup>、寺本 恵実菜<sup>1</sup>、山川 直樹<sup>2</sup>、田坂 祐一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬・臨床薬学研究室、<sup>2</sup>就実大・薬・医薬品合成化学研究室

### Y-28 薬剤誘発性急性大動脈疾患に対するケルセチンの抑制効果

○近藤 正輝<sup>1,2</sup>、石澤 有紀<sup>3</sup>、合田 光寛<sup>1</sup>、鈴木 琴子<sup>2</sup>、松岡 里英<sup>1,2</sup>、座間味 義人<sup>1,2</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、池田 康将<sup>5</sup>、石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>2</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>3</sup>徳島大・AWAサポートセンター、

<sup>4</sup>徳島大学病院・総合臨床研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

### Y-29 5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬併用によるシスプラチニン誘発腎機能障害に与える影響

○神田 将哉<sup>1,2</sup>、合田 光寛<sup>1,2</sup>、吉岡 俊彦<sup>1,2</sup>、吉田 愛美<sup>2</sup>、新村 貴博<sup>2</sup>、石澤 有紀<sup>3</sup>、座間味 義人<sup>1,2</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、濱野 裕章<sup>1</sup>、岡田 直人<sup>1</sup>、池田 康将<sup>5</sup>、桐野 靖<sup>1</sup>、中村 敏己<sup>1</sup>、石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>2</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>3</sup>徳島大・AWAサポートセンター、

<sup>4</sup>徳島大学病院・総合臨床試験研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

# 在宅医療における薬理学の役割

○狭間 研至<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ファルメディコ株式会社、<sup>2</sup>医療法人嘉健会思温病院、<sup>3</sup>一般社団法人日本在宅薬学会

「高齢者の尊厳の保持と自立生活の支援」「住み慣れた場所で最期まで」を目的に掲げる地域包括ケアシステムは、少子化と高齢化が同時に進行する我が国で、高度成長期時代に設計された国民皆保険制度の基本的な見直しが求められるという背景のもと、厚生労働省から2013年に示されたものである。

あれから7年。現在、確かに、この2つのテーマは静かに確実に実現され始めようとしている。「高齢者の尊厳の保持と自立生活の支援」を阻むのが認知症・脳梗塞・心筋梗塞・悪性新生物といった疾患であることを考えれば、やはり生活習慣病予防、禁煙推進とともに、生活習慣病の治療の徹底、検診の受診率向上が必要になってくる。

また、「住み慣れた場所で最期まで」過ごせる社会ということを考える際には、国民の2人に1人が罹患し、我が国の死因の1/3を占める悪性新生物、それに次いだ死因である心疾患、脳血管疾患、さらには、高齢化とともに増加しつつある認知症といった疾患に対する予防・治療体制の構築が求められる。

さらに、ここに高齢化の進行に伴う生産人口の低下や、分子標的薬や手術支援ロボットなどに端を発する高度高額医薬品や医療機器の保険収載などの問題を考えれば、我が国の国民皆保険制度の永続性と発展性を堅持するための新たな枠組み作りすら必要になってくる。

このような問題を抜本的に解決するには、①プライマリケアや予防医療の推進、②医薬協業体制下の在宅および外来医療の構築、③医療チームの生産性向上に向けたICT,IoT,AIの積極的活用を一元的に職種を超えて実現していく取り組みが求められる。

私は、このような社会問題への解決策に、今や6年制に移行して13年が経過した薬剤師や、コンビニよりも多いと揶揄される薬局を積極的に活用すべきだと考え、そのとっかかりとして、外来業務ほどは業務フローや役割分担が定まっていない在宅医療の現場で、薬剤師と共に活動することで一体何が見えてくるのかをつぶさに観察することを始めた。

その結果見えてきたことは、薬剤師の専門性が生きるのは、お薬をお渡しするまでの場面ではなく、患者が薬を飲んだあとまでフォローする場面であるということであった。当初はなぜそうなるのか戸惑ったが、薬剤師という専門職の成り立ちを考えてみると当然であると思い至った。 私事で恐縮だが、その昔、高校卒業後通った予備校は「医歯薬コース」のような教室であった。その頃の同級生の多くは、医師や歯科医師、薬剤師になっているが、よく考えてみるとそこまでは全く同じ勉強をしていたはずである。しかし、大学に入学して4年（当時）が過ぎれば薬剤師に、6年が経過すれば医師、歯科医師になり、いわば専門性が異なる専門家になったわけである。これら3つの職種の専門性が異なったのは、大学教育が異なったことが理由である。医学部では、解剖・生理、病理・病態を教えたあと、診断学・治療学を教え込む。このことによって、医師は、患者の状態を見抜き原因を診断し治療へと導くための治療を行うわけである。では、薬剤師は何を学んでいるのかを見てみれば、薬理学・薬物動態学・製剤学といった知識である。これらをもとに、患者の状態の謎を解き、よりよい薬物治療に近づけていくのが専門家としての薬剤師の役割であるが、薬理学に代表される薬学独自の学問の多くは、薬が身体に入ったあとどうなるかということを考え、解き明かす学問である。

ということは、薬剤師は薬をお渡しするまでではなく、のんびり後までフォローして初めて、自分が大学で学んだ専門知識を活かした専門家としての活動ができるのである。

薬剤師が服用後の患者の状態をフォローすれば、同時に薬学的見地からのアセスメントが行われる。それらの情報を、次回処方の前に、医師にフィードバックすることが、多剤併用や薬剤性有害事象を回避するためには不可欠であるというのが私の在宅医療の経験から得た結論であったし、このことは、今外来、そして病棟業務でも同様である。薬が身体に入った後の専門家として薬剤師を捉えることが、これから地域医療を深化させていくためは絶対に必要なことと言えよう。

P-01

## 意思決定異常に対する創薬標的: バレニクリンの有効性

○溝口 博之<sup>1</sup>、山田 清文<sup>2</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・環境医学研究所・附属次世代創薬研究センター、<sup>2</sup>名古屋大・院医・医療薬学・附属病院薬剤部

[目的]私たちが生活する社会は予期せぬ出来事の繰り返しである。そのような不確実な状況において、私たちはより良い結果が得られるように、複数の選択肢の中から最良と思われる選択肢を選び日々生活している。このリスクとベネフィットのバランスを考えて行動を決定するプロセスが意思決定である。前頭葉皮質に損傷のあるヒトの場合、その意思決定は近視眼的であり、長期的な利得の予測や評価が健常者とは異なる。薬物依存やギャンブル障害、統合失调症の患者においても意思決定異常が認められるが、その神経基盤はほとんど解っていない。私たちはこの問題に挑戦するために、動物用ギャンブル試験の確立を目指し、覚醒剤依存ラットがリスク志向な意思決定を示すことを報告した。一方、依存症やその他精神疾患におけるニコチン性アセチルコリン受容体の役割についても検討してきた。本研究ではラット用ギャンブル試験を用いて、覚醒剤依存ラットの意思決定異常に対するニコチン性アセチルコリン受容体作用薬の効果について検討した。[方法]8方向放射状迷路を用いたラット用ギャンブル試験を用いて意思決定を評価した。[結果・考察]ラット用ギャンブル試験を用いたところ、健常なラットはリスク回避型の行動選択を示し、覚醒剤を投与するとリスク志向な行動選択を示すことが分かった。ニコチンやバレニクリンの慢性投与はこのリスク志向な行動選択を緩解させることが分かった。以上のことから、バレニクリンは依存症や精神疾患で見られる意思決定異常に対して有効である可能性が示された。特に、 $\alpha_4\beta_2$ -ニコチン性アセチルコリン受容体は意思決定異常の創薬標的となる可能性がある。これら研究成果は意思決定異常を示す精神疾患研究に役立つと考えている。

P-02

## 半側性パーキンソン病モデルラットにおけるドパミン神経細胞死に対する5-アミノレブリン酸の抑制作用

○北村 佳久<sup>1</sup>、肱岡 雅宣<sup>1</sup>、北村 叶里<sup>1</sup>、柳沢 大治郎<sup>2</sup>、西村 周泰<sup>3</sup>、高田 和幸<sup>3</sup>、位田 雅俊<sup>4</sup>

<sup>1</sup>立命館大・薬・薬効解析、<sup>2</sup>滋賀医大・神経難病研、<sup>3</sup>京都薬大・統合薬科学、<sup>4</sup>岐阜薬大・薬物治療

パーキンソン病は黒質-線条体系ドパミン神経の脱落を原因とする神経変性疾患であり、病態形成過程において酸化ストレスの発生がドパミン神経細胞死に強く関与すると考えられている。本研究では、ラット黒質への6-hydroxydopamine (6-OHDA) のマイクロインジェクションによって誘導される半側性パーキンソン病モデルにおけるドパミン神経細胞死に対する5-aminolevulinic acid (5-ALA) の効果を解析した。5-ALAはポルフィリン合成経路におけるポルフィリンの前駆体であり、ポルフィリン類および代謝物のビリルビンには抗酸化作用を有することが報告されている。そこで、8週齢の雄性Wisterラットの黒質に6-OHDA (32 nmol) をマイクロインジェクションすることにより半側性パーキンソン病モデルとした。5-ALA (4, 40, or 400 nmol) 共存下、6-OHDAを同時にマイクロインジェクションした。6-OHDA投与7日後に脳を摘出し、tyrosine hydroxylase (TH) に対する免疫染色した。黒質においてTH陽性ドパミン神経細胞数が有意に減少し、線条体のTH陽性ドパミン神経線維の免疫染色が著しく低下した。これに対し、5-ALA同時処置により容量依存的に抑制した。また、半側性パーキンソン病モデルラットはmethamphetamine投与によって傷害側に回転運動が生じ、その回転数はドパミン神経の脱落の程度を反映している。そこで、6-OHDA投与7日後にmethamphetamine (2.5 mg/mg, i. p.) 投与し、90分間の回転数を測定したところ、6-OHDAの投与によって回転数は著明に増加した。これに対して、5-ALAは回転数を有意に減少させた。以上のことから、5-ALA同時処置による抗酸化作用により、ドパミン神経細胞死が抑制されたと推定される。また、5-ALAはパーキンソン病の発症予防および病態の進行を抑制すると期待される。

P-03

## ヒスタミンH<sub>2</sub>受容体作用薬amthamineによる頭部外傷後のBlood-brain barrier破綻に対する抑制効果

○道永 昌太郎、園田 清美、井ノ上 彩奈、水口 博之

大阪大谷大・薬

【背景】交通事故や転倒などによる頭部外傷は、脳内のバリア機能を担うBlood-brain barrier (BBB)を破綻させることによって脳組織に致命的なダメージをもたらしてしまう。本研究では、脳機能に深く関わる因子であるヒスタミンおよびその受容体の一種であるH<sub>2</sub>受容体に注目し、頭部外傷マウスのBBB破綻に対するH<sub>2</sub>受容体作用薬amthamineの効果を検討した。

【方法】Fluid percussion装置により発生させる水圧によって麻酔下のマウス（雄性ddY, 6-7週齢）にFluid percussion injury (FPI) による頭部外傷を与えた。BBBの破綻はマウスの尾静脈より投与したEvans blue色素の脳組織への漏出により評価した。H<sub>2</sub>受容体の発現はウエスタンブロット法および蛍光免疫染色法により確認した。H<sub>2</sub>受容体作用薬amthamine (25, 100および500 nmol/日)はFPIの3時間後から3日後にかけてマウスの側脳室内へ反復投与した。

【結果・考察】FPI 3日後のマウス脳ではBBBの破綻が顕著にみられた。また、FPI後のマウス脳において、H<sub>2</sub>受容体のタンパク質発現が増加していた。脳組織におけるH<sub>2</sub>受容体の発現細胞を確認したところ、H<sub>2</sub>受容体の発現は脳血管内皮細胞で多く確認され、FPI 2日後の脳組織ではアストロサイトにおいても発現が確認された。Amthamineを投与したマウス脳では、FPIによるBBBの破綻が投与量依存的に抑制されていた。これらの結果より、H<sub>2</sub>受容体作用薬は頭部外傷によるBBBの破綻を抑制できることが示され、頭部外傷に対する新たな治療薬となりうることが期待される。

P-04

## 睡眠導入薬によるイソフルラン麻酔の延長作用に及ぼす睡眠・覚醒状態の影響

○居場 嘉教、堀口 峻平、村居 宏樹、菅野 篤信

摂南大・理工

【背景・目的】最近、我々はオレキシン受容体拮抗薬であるスポレキサントが三種混合麻酔からの回復を遅延させるが、イソフルラン麻酔からの回復には影響しないことを報告した (Murai et al., 2020)。一方、Kelz等はイソフルラン麻酔からの回復が選択的オレキシン-1受容体拮抗薬 (SB-334867-A) の投与により遅延することを報告している (Kelz et al., 2008)。我々の実験は初期に行われたのに対し、Kelz等の実験は暗期に行われたことから、この矛盾は実験時間によるものである可能性が考えられた。本実験では、イソフルラン麻酔の延長作用に及ぼす睡眠導入薬（プロチゾラムおよびスポレキサント）の影響を初期および暗期で比較し、睡眠導入薬の作用に及ぼす睡眠・覚醒状態の影響について検討した。

【方法】実験には、視力が正常なICRマウスおよび盲目のFVBマウスを用いた。マウスにプロチゾラムまたはスポレキサントを経口投与し、一時間後に空気と混合した4%イソフルランを2分間吸入させた。麻酔ボックスから取り出してから正向反射が回復するまでの時間を麻酔時間として計測した。なお、暗期における実験は、マウスの概日リズムに影響を及ぼさないように、赤色灯の下で行った。

【結果・結論】ICRマウスの場合、プロチゾラムは初期では0.75 mg/kgの用量でイソフルランによる麻酔時間を有意に延長したのに対し、暗期では有意な延長作用を得るために2.5 mg/kgの用量を必要とした。また、スポレキサントは初期では麻酔時間に影響を及ぼさなかったのに対し、暗期では40 mg/kgの用量で麻酔時間を有意に延長した。次に、活動量や食物および水分の摂取量等に明確な睡眠・覚醒リズムが認められないFVBマウスを用いて、同様の実験を行った。FVBマウスの場合、プロチゾラムは、作用は弱いものの、初期・暗期ともに0.75 mg/kgの用量でイソフルランによる麻酔時間を有意に延長した。一方、スポレキサントは初期・暗期ともに麻酔時間に影響を及ぼさなかつた。以上の結果より、プロチゾラムおよびスポレキサントの睡眠導入作用は、睡眠・覚醒状態の影響を受けると考えられた。

P-05

## HMGB1 Translocation in Neurons after Ischemic Insult: Subcellular Localization in Mitochondria and Peroxisomes

○王 登莉、劉 克約、勅使川原 匡、和氣 秀徳、西堀 正洋

岡山大・院医歯薬

High mobility group box-1 (HMGB1), a nonhistone chromatin DNA-binding protein, is released from neurons into the extracellular space under ischemic, hemorrhagic, and traumatic insults. However, the details of the time-dependent translocation of HMGB1 and the subcellular localization of HMGB1 through the release process in neurons remain unclear. In the present study, we examined the subcellular localization of HMGB1 during translocation of HMGB1 in the cytosolic compartment using a middle cerebral artery occlusion and reperfusion model in rats. Double immunofluorescence microscopy revealed that HMGB1 immunoreactivities were colocalized with MTC01 (mitochondrially encoded cytochrome c oxidase I), a marker of mitochondria, and catalase, a marker of peroxisomes, but not with Rab5/Rab7 (RAS-related GTP-binding protein), LC3A/B (microtubule-associated protein 1 light chain 3), KDEL (KDEL amino acid sequence), and LAMP1 (Lysosomal Associated Membrane Protein 1), which are endosome, phagosome, endoplasmic reticulum, and lysosome markers, respectively. Immunoelectron microscopy confirmed that immune-gold particles for HMGB1 were present inside the mitochondria and peroxisomes. Moreover, HMGB1 was found to be colocalized with Drp1 (Dynamin-related protein 1), which is involved in mitochondrial fission. These results revealed the specific subcellular localization of HMGB1 during its release process under ischemic conditions.

P-06

## 炎症における末梢性グルタミン酸受容体を介した痛覚応答の増強

○益岡 尚由、中野 克哉、山下 優香、五十嵐 愛、田和 正志、何 強、村松 郁延、石橋 隆治

金沢医科大・医

侵害受容性神経の活性化によって、末梢の自由神経終末からpro-nociceptive mediatorのひとつであるグルタミン酸が遊離されることが知られている。我々は、遊離されたグルタミン酸が、近傍の侵害受容性神経の代謝型グルタミン酸受容体1/5 (mGluR1/5) に作用し、これがポリモダル受容体TRPV1を介した痛覚受容を修飾していることを明らかにしてきた。しかしながら、痛覚過敏の原因の一つである炎症によって、この末梢性グルタミン酸による痛覚制御がどのように変化するかは明らかにされていない。そこで本研究では、炎症によるmGluR1/5を介した痛覚応答の変化とその作用機序について解析した。

完全フロイントアジュバント (CFA) をマウスの後肢足底に皮下注射 (*i. p.l.*) して、慢性炎症を誘発した。炎症誘発後、mGluR1/5アゴニストであるDHPG (1 mM, *i. p.l.*) を炎症部位に投与して痛覚閾連行動を観察した。その結果、投与後3日目からDHPG誘発痛覚応答の持続時間が有意に増加した。この痛覚応答の亢進は、NGF受容体 (Trk) の阻害薬K252a (25 µg/kg, *i. p.*) もしくは抗TrkA中和抗体MNAC13 (200 µg/paw, *i. p.l.*) の前処置によって完全に消失した。次に、侵害受容性神経におけるmGluR1/5を介した細胞応答が、NGFによってどのように変化するのかを検討した。マウス後根神経節の初代培養細胞をNGF (100 ng/mL) で3日間処置し、この細胞のmGluR1/5活性化による細胞内カルシウム応答を測定した。NGF未処置群ではDHPG (100 µM) を灌流しても細胞内カルシウム応答はほとんど観察されなかつたが、NGF処置群では約12%の神経細胞で細胞内カルシウム濃度が上昇した。DHPG投与による膜電流応答を観察すると、NGFで処置した一部の神経細胞で内向き電流が観察され、この反応はTRPV1遮断薬によって抑制された。最後に、TRPV1の感作を仲介する足場タンパク質A-kinase anchor protein 5 (AKAP5) が、炎症時のDHPG誘発痛覚応答亢進に関与するか否かについて検討した。AKAP5欠損マウスにCFAを投与して炎症を誘発したが、DHPG誘発痛覚応答の増強は観察されなかった。

以上の結果から、炎症時には末梢性グルタミン酸によるmGluR1/5を介した痛覚応答は亢進しており、その作用機序としてNGFを介した侵害受容性神経におけるAKAP5依存的なTRPV1の機能亢進が関与していることが示唆された。

P-07

## 活性酸素種による聴覚伝達障害機序の解明

○鈴木 俊章、陳 林、足立 直子、齋藤 尚亮、上山 健彦

神戸大・バイオシグナル研・分子薬理

【背景・目的】活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) は、生体防御や種々の生理的機能を担う。一方で、過剰なROS生産は老化や癌などを促進するのみならず、多様な聴覚障害を誘発・増悪することが報告されているが、ROSが聴覚に与える影響の詳細については、不明な点が多い。NADPH oxidase (NOX) ファミリーは、ROSを产生する酵素として7種類が知られており、中でもNOX4は、全身の組織・細胞に発現し、恒常にROSを生産すると考えられている。我々は、NOX4を過剰に発現するトランスジェニック (NOX4-TG) マウスを作製し、正常飼育状態では難聴を呈さないものの、音響負荷により顕著な聴覚脆弱性を示すことを報告した。本研究では、NOX4-TGマウスを用いて、加齢や聴毒性で有名な抗ガン剤Cisplatin (CDDP) 投与が、聴覚伝達に及ぼす影響とその障害機序を見出すことを目的とした。

【結果】我々はNOX4-TGマウスの聴覚脆弱性の本体が、外有毛細胞のROS脆弱性にあることを報告している。本研究で、生後6日齢の野生型とNOX4-TGマウスの蝸牛を用いてDNAアレイ解析を行ったところ、NOX4-TGマウスでは、リボンシナプス（蝸牛有毛細胞に存在する音波を電気信号に変換する特殊なシナプス装置）構成タンパク質であるpiccolo 1が有意に低下することを見出した。そこで、リボンシナプスに注目して検討したところ、NOX4-TGマウス（1か月～12か月齢）では、加齢に伴う内有毛細胞でのリボンシナプス数の減少が加速することを発見した。また、2週齢の野生型とNOX4-TGマウスにCDDPを投与したところ、両者間で難聴の程度に差はなかったが、NOX4-TGマウスでは、蝸牛基底回転での外有毛細胞脱落が亢進し、内有毛細胞でのリボンシナプス数に有意な減少が認められた。

【考察】加齢やCDDP投与によるROS産生亢進が、リボンシナプスの減少、更には、外有毛細胞の脱落を促進することが解かった。近年、聴覚障害の発症には、有毛細胞へのダメージの前段にリボンシナプスへの障害が潜在すると”Synaptopathy”概念が支持されている。以上より、ROSによる聴覚伝導障害の発症には、有毛細胞の脱落に先立ち、有毛細胞のリボンシナプス障害が起点となる可能性が示唆された。

P-08

## 三種混合麻酔はアドレナリン $\alpha_2$ 刺激を介して血小板凝集を増強する

○近藤 一直、狩野 泰輝、菅沼 由唯、池本 和久、一瀬 千穂

藤田医科大・医・薬理

【目的】小動物に対する実験用麻酔として近年、三種混合麻酔 (MMB) が採用されつつある。我々はこれまでに、MMB麻酔が旧来型ペントバルビタールに比べてマウス血小板凝集能を増強する傾向にあることを報告してきた（第136回近畿部会攝南大、第93回横浜年会）。今回は $\alpha_2$ 受容体遮断薬を用いることによって、凝集増強のメカニズムを検討した。

【方法】ICRマウス、6ヵ月齢のオスを使用した。MMBはミダゾラム4 mg/kg+ブトルファノール5 mg/kg+メデトミジン0.75 mg/kgを用い、対照群としてペントバルビタール (80 mg/kg, pent) を設定した。クエン酸添加採血により得られた血液検体から低速遠心により多血小板血漿 (PRP) を分離し、血小板数25万/ $\mu$ Lに調整した。コラーゲン (0.5～1.0  $\mu$ g/mL) またはADP (1～5  $\mu$ M) 添加により血小板に凝集刺激を与え、光透過法により測定した (HEMATRACER712、MCM社製)。調整直後のPRP検体に $\alpha_2$ 受容体遮断薬としてアチパメゾール (1 nM～10  $\mu$ M) を添加し、37°C 30分間インキュベーションした後に上記凝集惹起実験を行った。

【結果】コラーゲン0.8  $\mu$ g/mL惹起性血小板凝集の最大凝集率は、pent群29.6±6.5%に対しMMB群68.8±10.1%と有意に増強されていた ( $n=5$ ,  $P=0.011$ )。これに対しアチパメゾール添加はMMB群の凝集率を用量依存的に抑制し、10  $\mu$ M添加においては23.0±10.5%とpent群と同レベルになった。また同様にADP2  $\mu$ M惹起性凝集も、凝集曲線下面積においてpent群1,985±400、MMB群4,483±816であったものが ( $n=5$ ,  $P=0.025$ )、アチパメゾール10  $\mu$ M添加によりMMB群2,407±477とpent群と同等レベルにまで抑制された。このとき、pent群に対するアチパメゾール添加はコラーゲン惹起性凝集・ADP惹起性凝集とも有意の変動を示さなかった。

【考察】 $\alpha_2$ 受容体遮断薬を用いることによってMMB麻酔動物の血小板凝集能はペントバルビタール麻酔時と同等レベルにまで抑制された。この結果から、MMB麻酔に含まれるメデトミジンが血小板膜上に発現する $\alpha_2$ 受容体を刺激することにより凝集活性を高めるものと考えられる。

## 脳卒中易発症性高血圧ラットにおいて血小板容積とリンパ球数の変化は脳卒中発症を予測するバイオマーカーである

○西中 崇<sup>1</sup>、ハティポール オメル フアルク<sup>1</sup>、和氣 秀徳<sup>2</sup>、森 秀治<sup>3</sup>、西堀 正洋<sup>2</sup>、高橋 英夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>近畿大・医・薬理、<sup>2</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学、<sup>3</sup>就実大・薬・生体情報学

【目的】無症候性脳梗塞は過去に自覚症状がなく、画像検査で脳梗塞と思われる変化をきたすものである。その多くは脳深部のラクナ梗塞であり、近年は脳小血管病として扱われる。高齢者の10~30%に認められ、脳卒中や認知症発症の高リスク群であると認識されている。脳卒中易発症性高血圧ラット(Stroke-prone spontaneously hypertensive rat、SHRSP)は高血圧を呈し、脳卒中を自然発症する。ヒト病態に類似した脳血管病変を示すことから脳小血管病の動物モデルとして位置づけられている。本研究では、SHRSPにおいて脳卒中発症に至るまでの期間における血球系の変動に関して解析を行った。これまでに、自発運動させたSHRSPでは脳卒中発症が遅延することを見出していることから、血球系の変動に対する自発運動の効果についても検討を加えた。

【方法】実験には雄性のSHRSPと対照群にWistar系雄性ラットを用いた。6週齢以降、1週間毎に尾静脈から採血を行い、多項目自動血球分析装置で解析した。血液脳関門の透過性は、エバンスブルーを静脈内投与し、投与1時間後に灌流を行い、色素の漏出によって評価した。自発運動は回転かごを取り付けたケージを使い、SHRSPが回転かごと通常の居住スペースを自由に移動することが出来るようにして行った。

【結果】SHRSPは12~14週齢の間に、体重の低下と手足の持ち上げ行動や痙攣などの神経学的な症状を呈し、血液脳関門における透過性の亢進が認められた。脳卒中発症の3週間前から大型血小板の増加とリンパ球数の低下が認められた。発症1週間前では、血小板数が低下していた。一方、SHRSPの赤血球はWistarラットと比較して小球性を示したが、赤血球に関連するパラメーターの変動は脳卒中発症との関連は認められず、Wistarラットと同様であった。自発運動は、脳卒中発症前の血小板数とリンパ球数の低下を抑制したが、血小板の大型化には影響しなかった。

【考察】無症候性の期間において、血小板容積とリンパ球数のモニタリングによって脳卒中の発症リスクを評価することができることが示唆された。

## 肺線維症で増加するGrowth/differentiation factor 15 (GDF15) はマクロファージと線維芽細胞を活性化する

○竹之内 康広、鳴田 大雅、北風 圭介、坪井 一人、岡本 安雄

川崎医科大・医

肺線維症は、肺における線維芽細胞の活性化と細胞外マトリックスの沈着を特徴とする疾患であり、根本的治療法がないため線維化に関わる新規シグナル分子を同定し検討することが重要である。我々は、肺線維症研究において最も広く使用されている、抗がん剤ブレオマイシン腹腔内反復投与肺線維症モデルマウスを用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、線維化肺でgrowth/differentiation factor 15 (GDF15) 遺伝子発現の増加を見出した。GDF15はストレス応答に関連し、老化細胞が産生することが報告されているが、肺線維症におけるGDF15の役割は未だ不明である。本研究ではGDF15の肺線維化過程に関与する新規シグナル分子としての可能性を検討することとした。

ブレオマイシン投与群の線維化肺において、GDF15の遺伝子発現は生理食塩水投与群に比べ約7倍に、また同タンパク発現も線維化肺およびBALFで約13倍に増加した。Senescence-associated  $\beta$ -galactosidase染色およびp16<sup>INK4a</sup>抗体による組織学的解析の結果において、ブレオマイシン誘導線維化肺における肺胞上皮細胞および肺胞マクロファージの細胞老化が認められた。また、抗GDF15抗体を使用した免疫組織化学染色およびブレオマイシンにより老化した肺胞上皮細胞A549におけるGDF15のmRNA発現増加から、GDF15はブレオマイシンにより細胞老化を受けている肺胞上皮細胞から産生されることが考えられた。マクロファージは活性化により炎症に関与するM1型と修復に関与するM2型に大別される。GDF15処置は、IL-4+IL-13刺激で増加したM2マーカー遺伝子 (*Arg1*および*Ch13*) をさらに増加させた。また、肺線維化において細胞外マトリックスを産生する筋線維芽細胞が、肺胞上皮細胞の上皮間葉転換や線維芽細胞の活性化により増加することが知られている。筋線維芽細胞に発現する  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) タンパクの発現を検討したところ、GDF15は肺胞上皮細胞A549に対し影響を及ぼさなかったが、線維芽細胞WI-38では  $\alpha$ -SMAの増加が認められた。Transforming growth factor  $\beta$  1型受容体であるALK5はSmad2/3のリン酸化を介し、線維化関連遺伝子の発現を誘導することが報告されている。線維芽細胞においてもGDF15によりSmad2のリン酸化が認められ、ALK5阻害薬の同時処置によりリン酸化の消失および  $\alpha$ -SMAタンパクの増加が抑制された。

以上の結果から、GDF15はマクロファージおよび線維芽細胞活性化することにより肺線維化の発症・進展に関与している可能性が考えられる。

P-11

## 口唇口蓋裂新規関連遺伝子の同定と機能解析

○安達 優華、白水 崇、小岩 純子、西村 有平

三重大・医・統合薬理学

口唇口蓋裂は、胎生期の組織欠損または癒合不全により生じる先天性疾患であり、日本ではおよそ500人に1人の割合で発症する。口唇口蓋裂の発症にはTGF betaシグナルやソニックヘッジホッグ (SHH) シグナルが重要な役割を果たしているが、その詳細なメカニズムに関しては不明な点が多く残されている。本研究では、公共データベースを利用した都ランスクリプトーム解析から、口唇口蓋裂モデルマウスであるTGF beta II型受容体ノックアウトマウスの口蓋においてMohawk homeobox遺伝子 (Mkx) のmRNA発現が低下していることを見出した。また、SHHシグナル阻害薬であるシクロパミンを曝露したゼブラフィッシュにおいてもmkxのmRNA発現が低下することを見出した。これらの結果は、TGF betaシグナルやSHHシグナルの異常に起因する口唇口蓋裂の発症メカニズムにMKXが関与する可能性を示唆している。現在、ゲノム編集技術を用いてmkx遺伝子をノックアウトしたゼブラフィッシュを作成し、その表現型の解析を進めている。

P-12

## 新規ビベンジル化合物による肥満細胞の脱顆粒に対する抑制機序

○浅井 遥<sup>1</sup>、青井 萌華<sup>1</sup>、熊澤 黎香<sup>1</sup>、宮坂 真由<sup>1</sup>、鈴木 萌<sup>1</sup>、高橋 美怜<sup>1</sup>、宮田 恵里花<sup>1</sup>、長島 史裕<sup>2</sup>、福石 信之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>金城学院大・薬、<sup>2</sup>第一薬科大

【背景】ビベンジル化合物は抗菌作用や抗炎症作用など様々な生理活性を示すことが知られている。今回、オオケビラゴケから抽出された新規ビベンジル化合物である09RP28-2(28-2), 09RP26-4(26-4)の肥満細胞への影響を検討した。

【方法】C57BL/6の骨髄細胞より骨髄由来肥満細胞(BMMC)を作成し、BMMCに28-2, 26-4を作用させ、Trypan Blue染色で生細胞率を算出した。BMMCをIgEで感作後28-2, 26-4を作用させ、抗原を添加し反応を惹起させた。反応惹起後にβ-hexosaminidase活性を測定し、脱顆粒率を算出した。28-2, 26-4を作用させたBMMCに抗原を添加し反応を惹起させ、Syk及びGab2のリン酸化をWestern blot法で検討した。また、28-2, 26-4を作用させたBMMCに抗原を添加し反応を惹起させ、FynとLynの結合を免疫沈降法にて解析した。

【結果・考察】28-2, 26-4は10 μMの濃度において、細胞毒性を示さなかった。また、10 μMの28-2, 26-4を作用させたBMMCの脱顆粒率はどちらも低下傾向を示し、28-2と比較して26-4の抑制率は高かった。10 μMの28-2を作用させたBMMCのSyk及びGab2のリン酸化は抑制されていた。一方、10 μMの26-4を作用させたBMMCではSykのリン酸化のみ抑制されていた。また、10 μMの28-2, 26-4を作用させたBMMCのFynとLynの結合は抑制されない傾向を示していた。前述したように、28-2と比較して26-4はより強くBMMCの脱顆粒を抑制していたが、26-4はLyn-Syk-LAT経路のみを、28-2はLyn-Syk-LAT経路及びFyn-Gab2-PI3K経路の2つの経路を抑制している可能性が示唆された。

ある種のビベンジル化合物は、肥満細胞のLyn-Syk-LAT経路の下流に存在するタンパク質のリン酸化を抑制するとの報告もあることから、26-4の脱顆粒抑制作用には、Sykのリン酸化抑制作用に加えてSykより下流の刺激伝達系の抑制も関与している可能性が考えられた。

## L-アスパラギナーゼアレルギーにおける抗体産生へのシクロホスファミドの影響

○原(野上) 愛<sup>1</sup>、堀 優太<sup>1</sup>、光畠 知恵<sup>1</sup>、梶山 光司<sup>1</sup>、須々木 健太郎<sup>1</sup>、嶋田 明<sup>2</sup>、見尾 光庸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬・薬効解析学、<sup>2</sup>岡大病院・小児・血液腫瘍科

【目的】L-アスパラギナーゼ (L-ASP) は、小児急性リンパ性白血病 (ALL) の標準治療薬である。L-ASPを投与された患者では、アレルギー反応や中和抗体産生による薬物耐性を生じることが臨床上重大な問題である。しかし、L-ASPアレルギーのモデル動物を用いた研究は少なく、L-ASP投与によるIgEやIgG産生への影響は十分明らかにされていない。また、L-ASPアレルギーに対するCY併用の影響も報告されていない。我々はこれまでに、マウスや培養肥満細胞を用いて、L-ASPアレルギーのモデルを構築した。本研究では、これらのモデルを用いて、IgEやIgGに対するL-ASPやシクロホスファミド併用の影響を検討した。

【方法】7週齢のBALB/c雄性マウスに対して、Alumを用いてL-ASPを全身感作し、続いて右耳介に局所感作した。耳介への最終投与日に、耳介浮腫など耳介におけるアレルギー反応を評価した。CY (75~300 mg/kg) は、全身感作の2日前に腹腔内投与し、抗IgE抗体は耳介浮腫を評価する前日に腹腔内投与してその影響を評価した。耳介浮腫の評価直後に回収した血清を用いてRBL-2H3細胞を感作し、L-ASPを添加した際の脱顆粒反応を評価した。IgGを選択的に吸着するプロテインGセファロースで血清を処理して同様の検討を行うことで、IgGの影響について評価した。マウス血清中の総IgE量をELISAで測定した。

【結果・考察】L-ASPを投与したマウス血清で感作したRBL-2H3細胞は、L-ASPの添加で脱顆粒し、CY 150 mg/kgを併用したマウス血清ではより強い脱顆粒が認められた。CY 300 mg/kgを併用したマウス血清では、CY150 mg/kgよりも脱顆粒は有意に低かったが、血清をプロテインG処理すると、脱顆粒は増強された。血清中総IgE量は、CYの併用でいずれの用量においても増加した。一方、抗IgE抗体を投与したマウスの耳介浮腫は抑制され、総IgE量は無感作マウス以下にまで低下していた。また、抗IgE抗体を投与したマウス血清で感作したRBL-2H3細胞は、脱顆粒を生じなかつた。

【結論】CYはIgE産生を増強するが、高用量ではIgG産生も誘導することが示唆された。CY併用で増強するアレルギー反応を、抗IgE抗体は抑制可能であることが示唆された。

## タバコ煙中の成分が Pdcd4 タンパク質発現量および遊走能に及ぼす影響とその機序

○西風 香那<sup>1</sup>、吉川 紀子<sup>1</sup>、陳 佳佳<sup>1</sup>、岩田 恵理子<sup>1</sup>、籠田 智美<sup>2</sup>、篠塚 和正<sup>2</sup>、中村 一基<sup>1</sup>

<sup>1</sup>武庫川女子大・薬・薬理学 I 、<sup>2</sup>武庫川女子大・薬・薬理学 II

【目的】Programmed cell death 4 (Pdcd4) はがん抑制遺伝子であり、喫煙者では非喫煙者と比較してその発現量が低下していることが報告されている。また、ニコチン・タール除去タバコ煙水抽出液 (CSE) 中に含まれる  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物は、抗酸化物質である Glutathione (GSH) と付加体を形成することで、酸化ストレスを引き起こすことが報告されている。そこで、今回は、CSE 中の成分が Pdcd4 タンパク質発現量及び遊走能に与える影響とその機序を GSH の前駆体である N-acetyl-L-cysteine (NAC) を用いて調べた。

【方法】CSE 中の  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物として、クロトンアルデヒド (CA)、アクリレイン (ACR) 及びメチルビニルケトン (MVK) を用いた。細胞は、マウスマエラノーマ細胞の B16-F0 及び B16-BL6 を使用した。細胞増殖能はコールターカウンターで生細胞数を計測することで検討した。Pdcd4 タンパク質発現量はウエスタンブロッティング法で検討した。遊走能は migration assay で検討した。

【結果】細胞増殖能は、CA を処置した時、B16-F0 では有意差は見られなかったが B16-BL6 細胞では 30  $\mu$ M で有意に低下した。ACR 及び MVK を処置した時、B16-F0 では 30  $\mu$ M で、B16-BL6 では 10  $\mu$ M で有意に低下した。Pdcd4 タンパク質発現量は、CA を 30  $\mu$ M 処置した時、両細胞で有意に低下し NAC はその作用を抑制しなかった。遊走能は、CA を 30  $\mu$ M 処置した時、両細胞で有意に低下し、NAC はその作用を抑制した。MVK を 10  $\mu$ M 処置した時、B16-BL6 細胞で有意に低下し、NAC はその作用を抑制した。

【考察】CSE 中の  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物によって遊走能は低下し、NAC はその作用を抑制したことから、遊走能の低下には酸化ストレスの関与が示唆された。一方で、 $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物によって Pdcd4 タンパク質発現量は低下し、NAC はその作用を抑制しなかったことから、Pdcd4 タンパク質発現量の低下には酸化ストレスとは別の機序が関与していることが示唆された。

P-15

## AGEsの共存がDAMPsの作用に与える影響の検討

○渡邊 政博<sup>1</sup>、豊村 隆男<sup>1</sup>、和氣 秀徳<sup>2</sup>、劉 克約<sup>2</sup>、勅使川原 匡<sup>2</sup>、高橋 英夫<sup>3</sup>、西堀 正洋<sup>2</sup>、森 秀治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬、<sup>2</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学、<sup>3</sup>近畿大・医・薬理学

【背景と目的】還元糖とアミノ基を有する分子の結合によって生成する終末糖化産物 (advanced glycation endproducts, AGEs) は、AGEs受容体 (receptor for AGEs, RAGE) を介して炎症反応を誘導することが示唆されている。過去に我々は、このメカニズムに加えて、AGEsは、直接的な相互作用を介して生体分子の機能を変化させる作用を有している可能性を見出した。我々は、この可能性について検討を進める過程で、本研究ではAGEsと同様にRAGEを介して作用すると考えられている内在性の起炎分子群であるダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns, DAMPs) に着目した。DAMPsもAGEsと同様に、他の炎症関連分子と相互作用し、その作用が変化することが報告されている。この知見は、AGEsとDAMPsとの間においても同様の現象が生じる可能性を示唆していると考えられる。そこで本研究では、AGEsと、代表的なDAMPsであるhigh mobility group box-1 (HMGB1) 等の炎症関連分子が相互作用を介して炎症反応を変化させる可能性について検討した。

【方法】昆虫細胞SF9を用いてタグ配列を付加したリコンビナントHMGB1の発現系を構築し、タグ配列を用いたアフィニティー精製によりリコンビナントHMGB1を調製した。調製したリコンビナントHMGB1、HMGB1と相互作用することが報告されている炎症関連分子、およびAGEsの間の相互作用を検討した。さらにこれらの分子を免疫担当細胞に与え、細胞機能の変化を検討した。

【結果と考察】検討の結果、リコンビナントHMGB1、HMGB1と相互作用することが報告されている炎症関連分子、およびAGEsの間に相互作用が生じる可能性が見出された。さらに、これらの分子を共存させることにより、免疫担当細胞における炎症反応が変化することが示唆された。以上の結果は、AGEsがDAMPsによって生じる炎症反応を変化させる作用をもつ可能性を示唆している。

P-16

## New compounds for atopic dermatitis promote selective AHR-induced Filaggrin transcription in NHEK cells

○樋口 牧郎、タムケオ ディーン、成宮 周

京都大・院医・創薬医学講座

アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis, AD)に対する治療において、免疫細胞を標的としたステロイド剤や免疫抑制剤が主流であり、軟膏を除き、表皮細胞を標的とした低分子化合物はほとんど知られていない。我々はリン脂質誘導体であるリゾホスファチジン酸が皮膚細胞においてLPAR-RHO-ROCK-SRFシグナルを介して皮膚細胞において皮膚バリアタンパク質であるフィラグリン (FLG) の発現量を上昇させることを報告した。今回、我々は皮膚細胞においてFLGの発現を増強する低分子化合物を見出した。我々が今回発見した低分子化合物はAHRを介してFLGを誘導することを明らかになった。AHRリガンドであるトリプトファンの二量体である6-formylindolo [3, 2-b] carbazole (FICZ) により活性化されたAHRはFLGのみならずCYP1A1などの様々な因子の転写を誘導するが、我々が作成した低分子化合物誘導体は比較的にFLG発現を選択的に誘導することを明らかにした。我々は、このFLGの誘導選択性を保持させたまま、低濃度でFLGの発現誘導を行う誘導体のスクリーニングを行った。その結果、より低濃度でFLGを選択的に発現誘導する誘導体を見出した。我々が今回発見した低分子化合物は、簡易な経口投与により直接皮膚に作用するAD治療薬としての開発が期待される。

Y-01

## 母体のDHA摂取による仔の熱性けいれん感受性の低下

○川野 真慈<sup>1</sup>、馬場 直道<sup>2</sup>、対馬 忠広<sup>2</sup>、三澤 嘉久<sup>2</sup>、石原 康宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・大学院総合科学研究科・生体機能化学、<sup>2</sup>備前化成株式会社・油脂開発部

熱性けいれんは、幼小児期においてのみ発症する発熱を伴ったけいれん発作である。けいれん発作持続時間が15分以上になると、成人後でんかん発症率が7倍になると報告されており、熱性けいれんの発作の抑制は極めて重要である。しかし、熱性けいれんの治療に際して、ジアゼパムやミダゾラムによりけいれんを収束させる対処療法が用いられ、熱性けいれんを予防する方法は無い。私たちの研究室では、ω-3脂肪酸であるドコサヘキサエン酸（DHA）が全般けいれん発作の潜時を延長することを報告してきた。そこで、本研究では、母体DHA摂取の仔の熱性けいれん予防効果について、マウス熱性けいれんモデルを用いて検討した。

妊娠9.5日目より妊娠マウスをコントロール食（大豆油食）、ω-3不飽和脂肪酸欠乏食（綿実油食）およびω-3不飽和脂肪酸欠乏食にDHAを補った食餌（綿実油+DHA食）で飼育した。仔（P10.5-11.5）の大脳皮質DHAをGC-MSで定量したところ、大豆油群と比較して綿実油群においてDHAが減少し、綿実油+DHA群では綿実油群と比較して有意に増加した。仔（P10.5-11.5）の体温をヒートチャンバーを用いて上昇させ、けいれんをスコアリングし、また、潜時を測定した。母体のDHA摂取は仔の熱性けいれんスコアには影響しなかった一方、体温が38.5°C以上になってから、Forelimb clonusを起こすまでの潜時が延長した。また綿実油+DHA群において、Forelimb clonusを初めて記録した時の体温も高くなった。従って、母体のDHA摂取は仔の熱性けいれん発症を抑制すると考えられる。

私たちは、DHAによりチトクロムP450アロマターゼ（CYP19）の発現が上昇し、脳内エストラジオールが増加することを報告している。そこで、脳内エストロゲンと熱性けいれんとの関係を調べた。綿実油+DHA群において、CYP19阻害薬であるレトロゾールを熱性けいれん誘導前日に腹腔内投与した。ヒートチャンバーにより熱性けいれんを誘導したところ、綿実油+DHA群で認められたけいれんの潜時延長やけいれん初発時における高体温が、レトロゾール投与によってキャンセルされた。従って、DHA摂取により脳内で合成されるエストロゲンがけいれん発作を抑制することが示唆された。

以上、本研究は、熱性けいれんを予防における母親のDHA摂取の重要性を示している。

Y-02

## Rhoキナーゼ阻害剤FasudilはMK-801誘発性行動障害を改善する

○高瀬 涼子<sup>1</sup>、澤幡 雅仁<sup>1</sup>、劉 瑛<sup>1</sup>、祖父江 顯<sup>1</sup>、宮川 泰宏<sup>1</sup>、永井 拓<sup>1</sup>、鍋島 俊隆<sup>2</sup>、山田 清文<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・院医・医療薬学・病院薬剤部、<sup>2</sup>藤田医科大・院医療科学・先進診断システム探索

【背景・目的】統合失調症は陽性・陰性症状、認知障害を主症状とする精神疾患であるが、治療抵抗性群などの存在が問題視されており、新規治療法の開発が必要とされている。近年我々は、統合失調症患者のゲノム解析を行い、Rho GTPase Activating Protein 10 (ARHGAP 10) 遺伝子の欠失変異を同定した。ARHGAP10はRhoGAPファミリーに属しており、統合失調症患者ではその下流シグナルであるRhoキナーゼ（ROCK）の恒常的な活性化が示唆された。そこで本研究では、統合失調症とROCKの関連性を調べる目的で、NMDA受容体アンタゴニストMK-801投与モデルの統合失調症様行動に対して、ROCK阻害剤Fasudilが与える影響について行動学的解析を行った。また、Fasudilおよびその活性代謝物であるHydroxy-fasudilの脳内及び血中動態を調べるためにLC-MS/MS解析を行った。【方法】全ての実験には7-10週齢のC57BL/6J雄マウスを用いた。Fasudil (10, 20 mg/kg) を腹腔内または経口単回投与した後、血漿と脳を回収し、LC-MS/MSで測定した。Locomotor試験では、Fasudilを腹腔内 (10, 20 mg/kg, 試験5分前) または経口投与 (10, 20, 30 mg/kg, 試験20分前) 後にMK-801 (0.3 mg/kg) を投与した。社会性および新奇物体認識試験では、各試験の30分前にMK-801 (0.1 mg/kg)、5分前にFasudil (10, 20 mg/kg) を腹腔内に投与した。【結果・考察】Fasudilの腹腔内投与により、Fasudil及びHydroxy-fasudilがKi値を十分に超える量で脳内に移行する事が示唆された。一方、経口投与ではHydroxy-fasudilのみ脳内に移行する事が示された。MK-801投与モデルを用いた行動学的解析の結果、Fasudilの腹腔内投与はMK-801により惹起された多動、社会性障害、認知記憶障害を有意に改善した。さらにMK-801誘発性の多動は経口投与によても改善された。以上の結果より、Rhoキナーゼ阻害薬Fasudilは、抗精神病作用を有することが示唆された。

Y-03

## カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)脳室内投与によるマウスの恐怖記憶保持への影響

○下西 陽大<sup>1</sup>、安藤 浩輝<sup>2</sup>、橋川 直也<sup>3</sup>、橋川 成美<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、<sup>2</sup>岡山理科大学、<sup>3</sup>岡山理科大学、<sup>4</sup>岡山理科大学

【目的】カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は痛みを伝える神経伝達物質として広く知られおり、カプサイシン感受性の知覚神経に含まれている。中枢、末梢と広く発現がみられ、我々の研究室においても新たな生理作用として、ストレス前にCGRPを脳室内投与するうつ様症状を改善させることをこれまで報告してきた。一方、CGRPと恐怖記憶に関する影響については未だ不明な点が多い。そこで、本研究では海馬における恐怖記憶にCGRP脳室内投与が影響を与えるかどうか、8週齢雄性のC57BL6Jあるいは同週齢のCGRP transgenic (TG) マウスを用いて検討を行った。

【方法】記憶学習の試験として、恐怖条件付け試験を行った。マウスの足元に0.3 mAの電流を2秒間、30秒のインターバルを開けて計4回行った。その後、マウスの脳室内にsalineあるいはCGRP(0.5 nmol)を脳室内投与し、恐怖記憶を覚えているかどうかを、脳室内投与後3時間、24時間の2点において、すぐみ時間を評価した。CGRPが過剰発現している状態の変化をみるため、CGRP TGマウスを用いた。C57BL6Jマウスと同様に足元に電流刺激を与えた後、24時間後のすぐみ時間を評価した。

【結果・考察】CGRPを脳室内投与することによって、3時間後、24時間後いずれにおいてもsaline群と比べて有意なすぐみ行動の減少がみられた。ショックを与えると最初の数時間後に記憶の固定化が起こると言われている。CGRP投与は記憶の固定時に恐怖記憶の形成に作用すると考えられる。一方、CGRP TGマウスにおいては、wild-typeマウスと比較して24時間後の恐怖記憶に変化が見られなかった。以上の結果よりCGRPは常に高発現した状態では恐怖記憶の形成に影響を及ぼさないが、ショック直後に脳室内投与を行うことによって恐怖記憶の形成を抑制することが明らかとなった。

Y-04

## カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)が起こす恐怖記憶抑制作用におけるProtein kinase Dの関与

○奥島 千裕<sup>1</sup>、森本 光未加<sup>2</sup>、橋川 直也<sup>3</sup>、橋川 成美<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、<sup>2</sup>岡山理科大・理、<sup>3</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科、<sup>4</sup>岡山理科大学大学院・理学研究科

【目的】カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は痛みに反応する神経伝達物質として広く知られている。CGRPの主な生理作用は血管拡張作用が知られているが、近年では中枢神経に影響を及ぼすことが報告されており、我々の研究室でもストレス負荷前にCGRPを脳室内投与すると、うつ様行動が抑制されることを報告してきた。しかしながら、恐怖記憶に関する影響は未だ明らかではない。これまで我々はCGRPを脳室内投与すると恐怖記憶保持を抑制すること、これにCGRP受容体が関与していることを報告してきた。そこで、次にCGRPによる細胞内シグナル経路を明らかにするためにprotein kinase D(PKD)に着目して解析を行った。

【方法】PKD阻害薬として知られているH89 (1 mg/kg) を腹腔内投与し、恐怖記憶保持への影響を恐怖条件付け試験により評価した。8週齢雄性C57BL6Jマウスの足元に0.3 mAの電流を2秒間、30秒のインターバルを計4回与えた。恐怖を与えた直後にCGRP(0.5 nmol)を脳室内投与し、24時間後、電流を与えた同じチャンバー内に入れ、すぐみ時間を評価した。行動試験終了後、海馬をパンチングし、PKD発現量をウェスタンブロッティングにより解析した。1次抗体は、rabbit polyclonal anti-PKD1/2/3 PKC micro antibody (1:5000; Gene Tex社) とタンパク質量補正としてrabbit anti-GAPDH 抗体 (1:20,000; Sigma-Aldrich社) を用いた。

【結果・考察】H89を投与した群において、CGRPによるすぐみ行動の有意な抑制がみられた。さらにCGRPにより海馬におけるPKD発現量の有意な増加が見られた。これらの結果より、CGRPはPKDを介して恐怖記憶の形成に関与している可能性が示唆された。

## ニコチンによる認知記憶増強作用の神経メカニズム

○江崎 博仁<sup>1</sup>、深尾 朱里<sup>2</sup>、伊藤 志穂<sup>1</sup>、尾崎 翔<sup>1</sup>、堂本 将輝<sup>1</sup>、泉 翔馬<sup>1</sup>、笹瀬 人暉<sup>1</sup>、西谷 直也<sup>1,2</sup>、出山 諭司<sup>1,2</sup>、金田 勝幸<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>金沢大・院薬・薬理、<sup>2</sup>金沢大・薬・薬理

ニコチン (Nic) は認知記憶力を向上させていることが知られているが、その作用部位は必ずしも明らかではない。一方、内側前頭前野 (mPFC) は、注意、学習・記憶を司る脳部位であり、Nicによる認知記憶増強作用に関与する可能性が考えられる。そこで本研究では、この仮説を検証するとともに、その神経機構について検討した。

雄性C57BL/6Jマウス (7 ~ 12週齢) を用いて新奇物体認識試験 (NOR) を行った。NORでは、訓練試行の24時間後に保持試行を行った。訓練試行では、二つの同一物体を配置して、一方、保持試行では一つの物体を新奇物体へ変更して、それぞれ10分間マウスに探索させた。物体認知記憶 (ORM) は、保持試行でのdiscrimination index (DI: (novel object探索時間-familiar object探索時間) /合計探索時間) によって評価した。

まず、訓練試行の10分前にNic (0.1 mg/kg) を皮下投与したところ、vehicle (Veh) 投与に比較して、物体総探索時間に影響を与えることなく有意に高いDIを示したことから、NicによるORMの増強が確認された。続いて、Nic (0.1 or 0.3 μg/side) を訓練試行の直前にmPFC内に局所投与したところ、用量依存的にDIが上昇した。次に、非選択的nAChR遮断薬のmecamylamine (0.25 μg/side) をNic皮下投与の5分前にmPFC内投与したところ、Nic投与により上昇したDIは有意に減少した。さらに、選択的α4β2 nAChR遮断薬のdihydro-β-erythroidine (2.5 μg/side)、または、選択的α7 nAChR遮断薬のmethyllycaconitine (10 μg/side) のmPFC内投与によってもNicによるDIの上昇は阻害された。一方、当研究室での予備検討からNicによるmPFC神経細胞の活動上昇に電位依存性K<sup>+</sup> (Kv) チャネルの抑制が関与する知見を得ていることから、Kvチャネル遮断薬4-aminopyridine (0.02 μg/side) を訓練試行の直前にmPFC内投与したところ、DIの有意な上昇が認められた。一方、Kvチャネル開口薬のretigabine (1.0 ng/side) をNic皮下投与の5分前にmPFC内投与したところ、NicによるDI上昇は抑制された。なお、いずれの処置においても物体総探索時間への影響は認められなかった。

以上の結果から、Nicはα4β2、α7 nAChRの活性化と、それに続くKvチャネルの抑制を介したmPFC神経細胞の活動上昇によって、認知記憶力を増強させることができた。

## マウスへの微小粒子状物質(PM2.5)曝露による炎症誘発と脳梗塞予後の増悪

○田中 美樹<sup>1</sup>、伊藤 康一<sup>2</sup>、鍋谷 悠<sup>3</sup>、石原 康宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・大学院統合生命科学・生命医科学、<sup>2</sup>徳島文理大・香川薬・薬物治療学、<sup>3</sup>宮崎大・工学教育研究・環境応用化学

【背景】煤塵・粉塵や自動車排気ガスから発生する微小粒子状物質 (PM2.5) による生体影響の研究はこれまで専ら呼吸器系が中心であったが、新たに脳神経系が着目されつつある。近年の疫学研究により、PM2.5曝露下では脳梗塞発症後の入院期間が延長するなど、脳梗塞予後が悪化することが報告されているが、メカニズムは不明である。全世界では年間約1,500万人が脳梗塞を発症しており、その悪化の抑止は喫緊の課題となっている。本研究では、マウスへPM2.5を曝露したのち実験的に脳梗塞を誘導し、PM2.5曝露による脳梗塞予後への影響を検討した。

【方法】雄性ICRマウスにPM2.5 (NIES CRM No. 28、北京市の大気からフィルター採取した微粒子) を50 or 100 μg/mouse/dayの濃度で7日間経鼻曝露し、8日目にPhotothrombosisにより脳梗塞を引き起こした。Rotarod test, Hanging-wire test, Modified neurological severity score (mNSS) により神経障害度を評価し、2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) 染色により梗塞巣体積を算出した。また、PM2.5曝露マウスの肺や白血球、ならびにPM2.5 (10 μg/mL) 処置後のマウス骨髄由来マクロファージ (BMM) における炎症性因子の発現をreal-time PCRにより解析した。

【結果】7日間のPM2.5曝露はマウスの体重・心拍数・血圧には影響しなかった。曝露マウスでは、脳梗塞発症後のRotarod testスコアやHanging-wire testスコアの減少に加えてmNSSスコアにも悪化傾向が認められ、PM2.5曝露により脳梗塞発症後の運動機能が増悪することが明らかになった。興味深いことに、曝露マウスでは脳梗塞7日後の梗塞巣体積が増大しており、脳梗塞発症後の死亡率が増加した。曝露マウスの肺や白血球、ならびにPM2.5処置6時間後のBMMにおける炎症性因子の発現を調べると、TNF αやCOX2が発現上昇しており、PM2.5曝露により全身性の炎症が誘発されることが示された。

【結論】本研究はPM2.5曝露後の脳梗塞の予後悪化について、初めて実験的に示したものである。さらに、本研究により、PM2.5曝露により惹起される炎症が予後悪化の一因である可能性が示唆された。

## HMGB1 中和抗体の局所投与はマウス遠位眼窩下神経慢性絞扼により発生する顔面感覚異常の発症を予防する

○河内 貴弘<sup>1,2</sup>、中村 康輝<sup>1</sup>、中島 一恵<sup>1</sup>、劉 克約<sup>3</sup>、和氣 秀徳<sup>3</sup>、西堀 正洋<sup>3</sup>、入船 正浩<sup>2</sup>、森岡 徳光<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医歯薬保健・薬効解析科学、<sup>2</sup>広島大・院医歯薬保健・歯科麻酔学、<sup>3</sup>岡山大・院医歯薬・薬理学

【背景】 三叉神経は顔面領域の知覚や運動機能を司る第五脳神経であり、外傷や智歯抜歯など歯科治療等により三叉神経を傷害した患者の約 7 割が外傷性三叉神経ニューロパチー (post traumatic trigeminal neuropathy: PTTN) を発症することが報告されている。PTTNは長期間持続する神経障害性疼痛の一種であり、痛覚過敏や感覚麻痺を含む感覚異常を呈する。一方で、術前のレントゲン検査や適応となる手術の侵襲度により、術後に PTTN を発症するリスクが高い患者を予測することができるが、有効な予防法は確立されていない。High mobility group box 1 (HMGB1) は非ヒストン核タンパク質であり、細胞傷害時にダメージ関連分子パターンの一種として細胞外に漏出し、炎症を惹起する。そこで、本研究では PTTN モデルマウスを用いて、HMGB1 の PTTN 発症への関与を解析した。

【方法】 ddY系雄性マウス(6週齢)の遠位眼窩下神経を絹糸により 2 回緩く絞扼することで遠位眼窩下神経慢性絞扼(dIoN-CCI) モデルマウスを作製した。術後 7、13 日において、顔面毛繕い時間と冷刺激に対する反応性を疼痛反応様行動としてそれぞれ測定した。術後 14 日において、三叉神経中枢端が存在する三叉神経脊髄路核 (Sp5C) におけるミクログリアの形態解析を行った。HMGB1 中和抗体(100 ng) は、手術直後と術後 2 日に神経傷害部位周辺へ投与した。

【結果】 dIoN-CCI モデルマウスは対照群と比較し、顔面毛繕い時間及び冷刺激に対する反応性が有意に増加するとともに、Sp5c におけるミクログリアの体積が有意に増加した。さらにHMGB1 中和抗体の局所投与は、dIoN-CCI による疼痛反応様行動とミクログリアの活性化を有意に減弱させた。

【考察】 PTTN の発症に HMGB1 は重要な役割を果たし、HMGB1 中和抗体が本病態の発症を予防できる可能性が示唆された。これらの結果は、これまで確立されていなかった PTTNの治療法において予防という観点から新規の治療戦略を提示する知見である。

## 脊髄性筋萎縮症におけるミクログリアの役割

○長内 大樹、安藤 葉、高橋 慶、中村 信介、鳴澤 雅光、原 英彰

岐阜薬科大・薬・薬効解析学研究室

【背景】 脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy :SMA) は脊髄運動ニューロンの変性と進行性の筋萎縮を主徴とした遺伝性疾患である。本疾患はSMNI (*survival motor neuron I*) 遺伝子の欠損または変異によるSMN蛋白質の発現低下により発症する。筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患において、ミクログリアによる炎症反応の惹起が病態の増悪に関与することが報告されている。また、炎症反応がSMA病態を増悪させる可能性が報告されているが、SMA病態におけるミクログリアの役割について詳細は明らかになってない。そこで、本研究ではSMAの治療薬として現在唯一使用されているヌシネルセンを用いて、SMA病態におけるミクログリアへの影響について検討することを目的とした。

【方法】 SMNΔ7マウスに対して、生後2日目にヌシネルセンと同配列のアンチセンスオリゴヌクレオチド (SMN-ASO) を脳室内投与した。陰性対照ASOとしてmismatch-ASO (MM-ASO) を用いた。体重を生後2日目から生後11日目まで毎日測定した。運動機能を評価するため、正向反射試験を生後4、8及び11日目に行った。生後11日のSMNΔ7マウスの脊髄におけるSMN蛋白質の発現量を抗SMN抗体を用いたWestern blot法により評価した。病態早期にあたる生後5日のミクログリア及び活性化ミクログリアの発現を抗Iba1抗体及び抗CD68抗体を用いた免疫染色法により評価した。

【結果】 SMNΔ7マウスにおいて、SMN-ASO処置により体重減少の抑制傾向が認められた。生後11日目では、SMN-ASO処置群はMM-ASO処置群と比較し、正向反射の反応時間が有意に短縮した。SMNΔ7マウスへのSMN-ASO処置により脊髄のSMN蛋白質の発現量が増加した。生後5日目では、野生型マウスと比較し、SMNΔ7マウスの脊髄前角におけるIba1陽性細胞数が増加した。さらに、SMN-ASO処置により、SMNΔ7マウスの脊髄前角におけるIba1陽性細胞数が減少した。CD68陽性細胞数はSMNΔ7マウスの脊髄前角で増加しており、SMN-ASOはCD68陽性細胞数の増加抑制作用を示した。

【考察】 本研究によりSMA病態にミクログリアが関与することが示唆された。さらに、脊髄組織のSMN蛋白質の発現を増加させることで、ミクログリアの発現が抑制され、SMA病態の増悪が抑制されることが示唆された。

## 神経細胞のレプチン抵抗性に対するグリア細胞由来adenosineの影響

○和田 萌々恵<sup>1</sup>、松浦 武典<sup>1</sup>、細井 徹<sup>2</sup>、柳瀬 雄輝<sup>3</sup>、松崎 周<sup>3</sup>、杉山 礼隆<sup>3</sup>、児玉 尚士<sup>3</sup>、小澤 光一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>広島大・薬・治療薬効学研究室、<sup>2</sup>山陽小野田市立山口東京理科大学・薬・臨床薬理学、<sup>3</sup>広島大・医系科学研究科・治療薬効学研究室

**【目的】**肥満の病態形成、摂食制御の分子メカニズムに関わる重要な因子としてレプチンが挙げられる。レプチンは脂肪組織より循環血液中に分泌される16kDaのホルモンであり、血液脳関門を通過し、主に視床下部の弓状核に直接作用し、JAK2-STAT3経路を活性化することで摂食抑制・エネルギー代謝亢進作用をもたらすことが知られている。肥満遺伝子産物であるレプチンは脂肪組織で発現するため、多くの肥満者において高レプチン血症が認められている。肥満遺伝子の発現が亢進しているにもかかわらず、ヒトで肥満が誘発されるのは肥満の病態形成にレプチン抵抗性が関与しているためと考えられている。一方、肥満者の脳内では慢性炎症が惹起されていることも知られており、炎症時にはATP、AMP、adenosineの遊離が見られる。本研究室ではこれまで、adenosineがトランスポーターを介して細胞に取り込まれレプチンシグナルを阻害することを見出してきた。そこで本研究では、炎症時におけるadenosine遊離細胞としてグリア細胞に着目し、グリア細胞から放出されたadenosineが神経細胞においてレプチン抵抗性を引き起こすメカニズムの解明を目的とした。

**【方法】**グリア細胞としてU251を使用し、神経細胞としてSH-SY5Y-0bRbを使用した。Adenosine遊離量の測定にはadenosine assay kitを用い、グリア細胞培養上清中のadenosine量を測定した。レプチン抵抗性はSTAT3、リン酸化STAT3の発現量をWestern Blot法により評価した。

**【結果・考察】**U251グリア細胞において小胞体ストレスや炎症性物質によるストレス負荷時のadenosine遊離量を測定すると、adenosine遊離量が増加することが認められた。そこで次に遊離されたadenosineがSH-SY5Y-0bRb神経細胞においてAMPKの活性化を介してレプチン抵抗性を引き起こす可能性を検証した。その結果、adenosineはAMPKを活性化せず、さらにはAMPK活性化阻害薬 (Compound C) の存在下においても、adenosineはレプチン抵抗性を誘導することが明らかとなった。従って、adenosineはAMPK活性化を介さずにレプチン抵抗性を引き起こす可能性が示された。今後の研究で、神経細胞におけるadenosineの標的タンパク質を同定することができれば、adenosineによる神経細胞のレプチン抵抗性の機序解明と、それをターゲットとした新しい治療法・治療薬の開発につながると期待される。

## 肥満病態時のレプチン抵抗性形成へのグリア細胞の役割

○佐藤 順斗<sup>2</sup>、細井 徹<sup>3</sup>、長谷川 由貴<sup>2</sup>、松村 奈美<sup>2</sup>、柳瀬 雄輝<sup>1</sup>、小澤 光一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医系科学・治療薬効、<sup>2</sup>広島大・薬・治療薬効、<sup>3</sup>山口東京理科大・薬・臨床薬理

### 【目的】

肥満は糖尿病や脂質異常症などの生活習慣病の原因となることから、その発症機構の解明は、新しい治療法・治療薬の開発に重要である。レプチンは主に脂肪細胞から循環血液中に分泌され、視床下部の神経細胞に作用し、エネルギー代謝亢進・摂食抑制作用により抗肥満作用を示す。肥満発症の原因の一つとして、レプチンが効きにくくなる状態、即ちレプチン抵抗性が関与することが示されているが、そのメカニズムについては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、グリア細胞の役割に着目し、肥満病態時の神経細胞におけるレプチンシグナルに及ぼすグリア細胞の役割を明らかにする。

### 【方法】

0b-Rbレプチン受容体を恒常に発現させたヒト神経芽細胞腫としてSH-SY5Y-0b-Rb 細胞を使用した。グリア細胞としてU251アストロサイトーマを使用した。神経細胞に対するレプチンの効果は、STAT3のリン酸化の強弱で評価した。

### 【結果および考察】

SH-SY5Y-0b-Rb 細胞にレプチンを処理すると、レプチン受容体の下流でSTAT3のリン酸化の上昇が見られる。この状態に対して、U251細胞の培養上清を処理しておく、神経細胞におけるレプチンシグナルの増強が起きることが明らかになった。従って、グリア細胞からはレプチンシグナルを増強させる因子が分泌されている可能性が示された。肥満病態時の脳内では慢性炎症が惹起されている。そこで、炎症性サイトカインの一種である、TNF $\alpha$  やリポポリサッカライド (LPS) で刺激をしたグリア細胞培養上清を処理した際の、神経細胞のレプチンシグナルに及ぼす影響を解析した。その結果、TNF $\alpha$  およびLPSを処理したグリア細胞の培養上清を処理すると、レプチンシグナルがより増強することが明らかになった。従って、肥満病態時の脳内においては、グリア細胞からレプチンシグナルを増強させる因子が分泌されている可能性が示された。また一方で小胞体ストレス誘起物質を処理したグリア細胞の培養上清を神経細胞に処理すると、レプチンシグナルが減弱したことから、レプチン抵抗性にはグリア細胞の小胞体ストレスが関与している可能性が示された。今後さらに神経細胞のレプチン抵抗性におけるグリア細胞の役割を明らかにすることで、グリア細胞-神経細胞間の相互作用をターゲットとしたより効果的な治療薬の開発につながると期待される。

Y-11

## 嗜癖/嫌惡の調節における背側縫線核セロトニン神経の役割の解明

○永井 佑茉、高山 海都、安藤 千紘、永安 一樹、白川 久志、金子 周司

京都大・院薬

脳内報酬系は、個体の生存に必須の脳神経系の一つであり、その機能の破綻は、うつ病などの精神疾患患者でも見られる無快感症の原因ともなることから、その詳細なメカニズム解明は急務である。従来、脳内報酬系の中核を担っていると考えられてきたのは、腹側被蓋野ドパミン神経である。しかし近年、気分調節や不安などの情動機能の制御に関わると考えられている背側縫線核セロトニン神経回路の活動亢進が、報酬効果を有する可能性が示唆されているものの、それを否定する報告もなされており、その詳細は未だ不明である。そこで我々は、セロトニン神経特異的に外来遺伝子を高発現させ得るアデノ随伴ウイルスベクター(AAV)を作製するとともに、光遺伝学的手法を用いて、背側縫線核のセロトニン神経の活動変化が、報酬関連行動に与える影響を検討した。青色光により神経活動を亢進させ得るCheriff及び緑色光で神経活動を抑制することができるeArchTを用いて、背側縫線核セロトニン神経活動を特異的に亢進/減弱させた際の報酬系に与える影響を、オペラント条件付け試験と条件付け場所嗜好性試験により検討した。その結果、背側縫線核セロトニン神経の神経活動の亢進は、光活性と関連付けられたノーズポーク行動の回数および光活性と関連付けられた区間での滞在時間を有意に増加させた。またこれらの効果は、腹側被蓋野の背側縫線核セロトニン神経終末を光活性した際にも確認された。一方で、背側縫線核セロトニン神経及び腹側被蓋野のセロトニン神経終末の光抑制は、顕著な場所嫌悪性を示した。以上の結果は、腹側被蓋野に投射する背側縫線核セロトニン神経活動が、嗜好/嫌惡のバランスを決定していることを強く示唆している。

Y-12

## セロトニントランスポーターの機能制御におけるE3ユビキチンリガーゼHRD1の役割

○田口 慧<sup>1</sup>、本池 芹佳<sup>1,2</sup>、金子 雅幸<sup>3</sup>、村川 青矢<sup>1</sup>、原田 佳奈<sup>1</sup>、秀 和泉<sup>1</sup>、田中 茂<sup>1</sup>、酒井 規雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大・院医歯薬保健・神経薬理学、<sup>2</sup>広島大・院医系科学・歯科麻酔学、<sup>3</sup>広島大・院医系科学・分子細胞情報学

**目的：**セロトニントランスポーター(SERT)は、神経終末に存在し、セロトニンの再取り込みを担う膜タンパク質である。SERTは気分障害、不安障害、自閉症などに関与する分子であり、抗うつ薬の作用点としてもよく知られている。SERTは、小胞体で翻訳され、ゴルジ体を経由して形質膜に膜輸送される。さらに、形質膜に発現した機能的SERTはエンドサイトシスにより細胞質に取り込まれリソソームにより分解されている。一方、折りたたみ不全が生じたSERTはほとんど形質膜には輸送されず、小胞体において小胞体関連分解(ERAD)により分解されると考えられている。しかしながら、その詳細な機構については未だに明らかになっていない。そこで、今回ERADにおいて重要な役割を担うユビキチンリガーゼであるHRD1に着目し、SERTとの関係について調べた。

**方法：**HRD1 si RNAを導入したCOS7細胞およびHRD1安定過剰発現させたHEK293細胞を用いて野生型SERT(WT-SERT)およびSERTの折りたたみ不全変異体のSERT Δ CT(SERT C末端欠損変異体)をこれらの細胞に発現させ、セロトニン取り込み活性、タンパク発現、シクロヘキシド(CHX)チエイスアッセイによるタンパク分解を検討した。

**結果と考察：**HRD1 si RNAを用いたHRD1のノックダウンによって、WT-SERT、SERT Δ CTいずれを導入した細胞においてもSERTタンパク発現が有意に上昇した。また、セロトニン取り込み活性も上昇した。CHXチエイスアッセイにおいて、HRD1 si RNAによるHRD1のノックダウンはSERT Δ CTの分解を有意に抑制した。一方、HRD1の過剰発現はWT-SERTの分解を有意に増強した。免疫蛍光染色ではSERTとHRD1は一部共局在していることが観察された。これらの結果から、HRD1はERADを介したSERTの分解に関与することで、SERTの膜輸送に寄与することが示唆された。

## 視床後外側腹側核に存在するニコチン性アセチルコリン受容体刺激による神経伝達物質放出とその疼痛抑制作用への関与の検討

○小野 晴菜<sup>1</sup>、金城 達弥<sup>1</sup>、御船 正樹<sup>1</sup>、佐治 英郎<sup>2</sup>、上田 真史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山大・院医歯薬、<sup>2</sup>京都大・院薬

【目的】神経障害性疼痛は、中枢及び末梢神経が傷害されて起こる難治性の疼痛疾患である。既存の鎮痛薬が奏功しないことが多い、新たな鎮痛薬の開発が望まれている。所属研究室では、ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)アゴニストである5-iodo-3-(2(S)-azetidinylmethoxy)pyridine(5IA)を視床後外側腹側(VPL)核に投与することにより、神経障害性疼痛抑制作用が発現することを見出している。しかし、その作用機序の詳細は不明である。本研究では、VPL核nAChRを介して発現する疼痛抑制作用の機序解明を目的として、nAChRを介する疼痛抑制作用への関与が報告されているセロトニン(5-HT)と抑制性神経伝達に関与するGABA、タウリンについて検討を行った。

【方法】雄性SDラットの視床VPL核に微小透析膜を挿入し、馴化後、Salineあるいは5IA(10, 50 nmol)を投与し、経時的に灌流液を回収してHPLCで分析した。続いてラット脳切片を用いて、 $\alpha$ -4-nAChRサブユニットと5-HT作動性、GABA作動性神経のマーカータンパク質をそれぞれ蛍光二重免疫組織染色した。最後に、坐骨神経結紮ラットのVPL核に、5IA(10 nmol)と5-HT受容体拮抗薬であるメチセルジド(Met: 1 ~ 4 nmol)の混合溶液を投与し、疼痛抑制作用を評価した。

【結果・考察】マイクロダイアリシス実験の結果、5IA 10 nmol投与群ではSaline投与群と比較して、回収した灌流液中の5-HT濃度が約2.9倍、タウリン濃度が約2.2倍増加し、50 nmol投与群ではさらなる増加を認めた。GABA濃度は、50 nmol投与群においてSaline群の約4.1倍に増加した。蛍光二重免疫組織染色の結果、VPL核の5-HT作動性、GABA作動性神経それぞれにnAChRが発現していることが示唆された。坐骨神経結紮ラットのVPL核内に5IAを単独投与したところ、投与15分後に有意な疼痛抑制作用( $P < 0.001$ )が発現したが、Metと混合投与することで、疼痛抑制作用は濃度依存的に拮抗された。以上の結果より、VPL核のnAChRを刺激することで5-HT、GABA、タウリンが放出され、放出された5-HTが疼痛抑制作用の少なくとも一部に関与することが示唆された。

## Behavioral and morphological abnormalities in a mouse model with copy number variation of the vasoactive intestinal peptide receptor VIPR2 gene

○陳 露<sup>1</sup>、竹内 修斗<sup>2</sup>、山田 めみ<sup>1</sup>、宮岡 辰典<sup>1</sup>、山口 拓海<sup>1</sup>、中澤 敬信<sup>2,3,4</sup>、中川 晋作<sup>1,5</sup>、橋本 均<sup>2,6,7,8,9</sup>、吾郷 由希夫<sup>1,5,10</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院薬・薬剤、<sup>2</sup>大阪大・院薬・神経薬理、<sup>3</sup>大阪大・院歯・薬理、<sup>4</sup>東京農業大・バイオサイエンス・動物分子生物、<sup>5</sup>大阪大・国際医工情報センター、<sup>6</sup>大阪大・院連合小児発達、<sup>7</sup>大阪大・データビリティフロンティア機構、<sup>8</sup>大阪大・先導的学際研究機構、<sup>9</sup>大阪大・院医・分子医薬、<sup>10</sup>広島大・院医・細胞分子薬理

Clinical studies have shown that microduplications at 7q36.3, containing VIPR2, are a risk factor for schizophrenia and autism spectrum disorder. VIPR2 gene encodes the VPAC2 receptor for VIP (vasoactive intestinal peptide) and PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide). Lymphocytes from patients with these mutations exhibited higher VIPR2 gene expression and VIP responsiveness, indicating the functional significance of the microduplications and VPAC2 receptor overactivation. To investigate how increased VIPR2 dosage might predispose to psychiatric disorders, we have developed a bacterial artificial chromosome (BAC) transgenic mouse model of VIPR2 copy number variation (CNV) that recapitulates the genetic architecture of the susceptibility allele. Using BAC-mediated transgenic methods, we generated mice with integrated additional copies of the mouse VIPR2 gene. A founder animal was generated that genotyped positive for multicopy BAC integration. Southern blot analysis revealed three copies of the transgene in hemizygous mice. Then, expression of VPAC2 receptor mRNA significantly increased in the prefrontal cortex of VIPR2-BAC transgenic mice relative to wild-type littermate controls. VIPR2-BAC transgenic mice showed hyperactivity and cognitive deficits. Additionally, morphological analysis revealed reduced dendritic complexity in both apical and basal dendrites of cortical pyramidal neurons in VIPR2-BAC transgenic mice. Our studies would provide a useful mouse model for uncovering the causative pathogenic role of VIPR2 CNV on neural circuits and behavior.

## 社会的敗北ストレスの強さに応じた神経活動変化のイメージング解析

○平戸 祐充<sup>1</sup>、前田 駿介<sup>1</sup>、勢力 薫<sup>1,2</sup>、笠井 淳司<sup>1</sup>、橋本 均<sup>1,3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院薬・神経薬理、<sup>2</sup>大阪大・国際共創、<sup>3</sup>大阪大・院連合小児発達、<sup>4</sup>大阪大・データビリティフロンティア機構、<sup>5</sup>大阪大・先導的学際研究機構、<sup>6</sup>大阪大・院医・分子医薬

**【背景・目的】** ストレスは、変化した環境への適応や生命の脅威に対する適切な行動選択に必要な生理反応を引き起こす。しかし、過剰なストレスは情動などの脳機能に変調をもたらし、うつ症状・心的外傷後ストレス障害等の精神疾患を引き起こしうる。このようにストレスの強さに応じて脳機能に与えられる影響が変化すると考えられるが、この事象に関する神経活動変化の詳細は不明である。そこで本研究では、社会的敗北ストレス(以下、social defeat [SD])をマウスに異なる強さで負荷した後の行動変化と神経活動変化を解析し、ストレスの強さに応じた脳機能の適応や変調に関する神経基盤の一端を明らかにすることを目的とした。

**【方法】** マウスの行動を指標としてストレスの強さを分類するために、C57BL/6Jの被験マウスに10分間のSDを1回(以下、1×SD)または連続5回(以下、5×SD)負荷し、その翌日に社会的相互作用試験を行うことで、ストレスによる社会性への影響を評価した。また、ストレスの強さに応じた神経活動の変化を解析するために、最初期遺伝子*c-fos*のプロモーター制御下に緑色蛍光タンパク質EGFPを発現する遺伝子改変マウスに1×SDまたは5×SDを負荷し、当研究室で構築した脳全体を高精細に撮影できるFASTシステムを用いて全脳イメージングを行った。脳はSD負荷開始から3時間後に灌流固定した。イメージング後、脳を314領域に分割したうえでEGFP陽性細胞数を計測した。

**【結果・考察】** ストレスを負荷していない对照群や1×SD負荷群と比較して、5×SD負荷群のマウスでは社会的相互作用時間が有意に減少し、社会性の低下が認められた。各群の脳全体の神経活動を解析した結果、青斑核など複数の脳領域でEGFP陽性細胞数がストレスの強さの増大に伴い顕著に増加していた。また、領域間での変化率の相関をヒートマップ化した結果、1×SD負荷群と5×SD負荷群で異なるヒートマップが得られた。以上のことから、ストレスの強さの増大により青斑核などの神経活動の亢進や、それらと相互作用する脳領域の変化が生じ、社会性の低下などの行動変化がもたらされると考えられる。今後は、得られたデータの更なる解析から行動変化に関わる脳領域の候補を絞り、その神経投射や他の脳領域に与える影響などを明らかにし、ストレスの強さに応じた脳機能の制御機構の解明を目指す。

## ステロイド抵抗性喘息におけるIL-5の役割

○霜良 勇人、橋本 健之介、美奈川 茉里、阿野 理菜、松田 将也、北谷 和之、奈邊 健

摂南大・薬・薬効薬理

**【背景及び目的】** 喘息患者の5~10%はステロイド薬に対する抵抗性を獲得し重症に至るとされるが、その獲得機序は不明である。我々は、これまでにovalbumin (OVA) 感作マウスに5あるいは500 μg/animalのOVAを投与することにより、それぞれステロイドに感受性あるいは抵抗性を示す2つのモデルを確立した。本研究の目的は、ステロイド抵抗性の獲得における好酸球誘導因子IL-5の関与を明らかにすることである。

**【方法】** OVA+A1(OH)<sub>3</sub>感作BALB/cマウスに、OVAを4回気管内投与することで反応惹起を行った。デキサメタゾン(DEX、1 mg/kg)およびIL-5抗体(TRFK-5)は惹起期間中にi.p.した。4回目惹起後に、肺に浸潤した好酸球数を気管支肺胞洗浄により測定した。また、摘出肺組織をperiodic acid-SchiffおよびMasson-trichrome染色することによって気道リモデリングの程度を評価した。さらに、肺組織よりflow cytometerによってCD4<sup>+</sup> T細胞および2型自然リンパ球(ILC2、Lineage<sup>-</sup> CD45<sup>+</sup> ICOS<sup>+</sup> ST2<sup>+</sup> CD90.2<sup>+</sup> 細胞)を単離し、IL-33/TLSP共存下72時間培養し上清中IL-5をELISAで定量した。

**【結果】** (1) 5 μg OVA群の好酸球浸潤および気道リモデリング(気管支上皮の肥厚および粘液貯留ならびに線維化)はDEX処置で強く抑制されたが、500 μg OVA群のそれらは抑制されなかった。(2) ステロイド抵抗性モデル(500 μg OVA群)において、TRFK-5処置により好酸球浸潤を強く抑制すると、気道リモデリング形成に対するDEX抵抗性は有意に解除された。(3) ステロイド抵抗性モデル(500 μg OVA群)由来ILC2は、感受性モデル(5 μg OVA群)由来のそれに比較して、大量のIL-5を産生した。一方、CD4<sup>+</sup> T細胞のIL-5産生能は、いずれの群においてもILC2よりも低かった。

**【考察】** IL-5の中和によりステロイド抵抗性が解除されること、また、ステロイド抵抗性モデルにおけるIL-5の主要な産生源はILC2であることが明らかとなつた。したがって、ステロイド抵抗性の獲得に、ILC2から産生されるIL-5、ならびにIL-5のよって肺に浸潤した好酸球が関与する可能性が強く示唆された。

## Hillの式を利用した破骨細胞分化の数理モデリングおよび破骨細胞分化メカニズムの解析

○泉 和弥<sup>1,2</sup>、安富 栄人<sup>1,2</sup>、竹入 雅敏<sup>3</sup>、野間 成人<sup>3</sup>、肥田 重明<sup>1</sup>、青山 峰芳<sup>1</sup>、朝霧 成挙<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>名古屋市立大・院薬、<sup>2</sup>京都大・ウイ再研、<sup>3</sup>京都大・院医、<sup>4</sup>山口大・院医

骨の恒常性の維持には、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成の適切なバランスが重要であり、破骨細胞の過剰な機能亢進は骨粗鬆症や関節リウマチなどの骨破壊性疾患につながる。破骨細胞の分化・成熟には receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) シグナルが重要な役割を果たしていることが知られるが、近年の研究によって、tumor necrosis factor (TNF) と interleukin-6 (IL-6) の共刺激 (TNF/IL-6) も RANKL と同様に破骨細胞分化を引起すことが明らかとなっている。

本研究では、RANKL あるいは TNF/IL-6 刺激による破骨細胞分化にともなう経時的な破骨細胞数の変化がHillの式で表現できると仮定した数理モデルを作成し、2種の刺激によってもたらされる破骨細胞数変化の挙動やこれら刺激の互換性について、実験と数理モデルによって比較・検討を行った。構築された数理モデルを、実際の RANKL または TNF/IL-6 刺激で誘導される破骨細胞数変化のデータにフィッティングした時のパラメータの違いにより、両者が異なる挙動で進行することが示された。また、RANKLやTNF/IL-6で刺激された破骨細胞前駆細胞は、刺激途中で各々の刺激を他方に切替えても成熟破骨細胞へと分化できることが明らかとなった。前半の刺激によって細胞内に準備された破骨細胞分化機構を後半の刺激が利用できる、あるいは利用できないとしたシミュレーションを作成し、ユーフリッド距離を用いて実験データと比較を行ったところ、RANKLおよびTNF/IL-6刺激は、破骨細胞分化においては相互互換的であり、RANKLとTNF/IL-6による破骨細胞分化機構には何かしらの共通部分があることが予想された。

今後さらにRANKLあるいはTNF/IL-6による破骨細胞分化機構の共通点および相違点が明らかとなれば、関節リウマチや歯周病など、炎症性サイトカイン放出をともなう骨破壊性疾患の機序の解明および新規治療法の創出につながると期待される。

## 閉経後骨粗鬆症モデルマウスに対する補中益気湯含有食の効果について

○落合 信介<sup>1</sup>、山田 孝紀<sup>1</sup>、徳村 和也<sup>1</sup>、尾崎 翔<sup>2</sup>、金田 勝幸<sup>2</sup>、檜井 栄一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岐阜薬科大・薬理、<sup>2</sup>金沢大・院薬・薬理

### 「背景」

骨粗鬆症は骨強度が低下し、骨折が起こりやすくなる疾患である。一方、補中益気湯は虚弱体質者の体力増強に用いられる補剤の代表であり、広範な疾患に用いられている。本研究ではモデル動物を用いて、補中益気湯エキス粉末の閉経後骨粗鬆症に対する有効性を検討した。

### 「方法」

8週齢のddY雌性マウスに卵巢摘出術を施し、閉経後骨粗鬆症モデルマウス（OVX群）を作製した。腹部を切開し卵巢を摘出せずに縫合したマウスを偽手術群（Sham群）とした。OVX群とSham群に術後4週間、通常食あるいは補中益気湯含有食（補中益気湯エキス粉末4.0%）を負荷し、12週齢の時点で骨解析のため脊椎を摘出した。摘出した脊椎をプラスチック包埋後、切片を作製し、フォンコッサ染色（骨量測定）、トルイジンブルー染色とカルセイン二重標識（骨芽細胞活性測定）、およびTRAP染色（破骨細胞活性測定）を行った。

### 「結果」

全ての群（Sham+通常食負荷群；OVX+通常食負荷群；Sham+補中益気湯含有食負荷群；OVX+補中益気湯含有食負荷群）において、摂食量、飲水量および体重に変化は認められなかった。また、通常食負荷群および補中益気湯含有食負荷群の両群において、OVX群の子宮重量は有意に低下した。骨量の測定を行ったところ、通常食負荷群において、卵巣摘出術による著明な骨量低下が認められた。一方、補中益気湯含有食負荷群では、卵巣摘出術による骨量低下が有意に抑制されていた。骨芽細胞の活性は、通常食負荷群および補中益気湯含有食負荷群の両群において、Sham群とOVX群に有意な差は認められなかった。破骨細胞の活性は、通常食負荷群において卵巣摘出術により著明に上昇した。一方、補中益気湯含有食負荷群では、卵巣摘出術による破骨細胞の活性化が有意に抑制されていた。

### 「考察」

以上の結果から、補中益気湯含有食（補中益気湯エキス粉末4.0%）の長期的な経口摂取は、破骨細胞の活性化抑制を介して、卵巣摘出に伴う閉経後骨粗鬆症に対する有効性を示すことが推測された。

## アトルバスタチンによる老化予防効果の可能性について

○林 樹奈<sup>1</sup>、吉井 美智子<sup>2</sup>、小澤 光一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>広島大・薬・治療薬効学研究室、<sup>2</sup>広島大・院医・治療薬効学

【目的】近年、我国を始め世界的に人口の高齢化が進んでおり、老化の予防は急務といえる。老化の進行により筋力や認知機能が低下し、フレイルを経て要介護状態となる。フレイルは、治療、予防により健常状態にもどることが可能であり、フレイルのコントロールにより健康寿命は延長できると考えられている。そこで、我々は、sam11 GTPase阻害による多面的作用（増殖抑制、抗酸化、抗炎症作用など）を有するHMG-CoA還元酵素阻害剤アトルバスタチン(Atorv)に着目し、老化促進マウス(SAMP8)に投与し、Atorvの抗老化作用について検討を行った。

【方法】通常老化を示す8週齢雄性SAMR1マウス、8週齢雄性SAMP8マウスをAtorv群 (Atorv 30mg/kg/day in 0.5% CMC)、control群 (0.5% CMC) 各5匹に分け、運動能力等を評価するため、オープンフィールド試験(23週齢)、ワイヤーハンギングテスト(26週齢)、ポールテスト(26週齢)、記憶能力を評価するため、新奇物質認識テスト(25週齢)、帰巣試験(26-27週齢)を行った。現在、受動回避行動試験を行っている。

【結果・考察】オープンフィールド試験の結果、SAMR-2群間、SAMP8-2群間で有意差は認められなかつたが、SAMR1マウス、SAMP8マウス共にAtorv群の立ち上がり回数は増加傾向を示した。ワイヤーハンギングテストによるぶら下がり時間はSAMR-2群で差は認められなかつたが、SAMP8-Atorv群はSAMRと同等であり、SAMP8-cont群では有意に減少していた( $p<0.05$ , vs SAMP8-Atorv)。ポールテストの結果、SAMR-2群間、SAMP8-2群間で有意差は認められなかつたが、SAMR-Atorv群、SAMP8-Atorv群では、各cont群に対し、マウスが下を向く時間が延長する傾向を示していた。新奇物質認識テストの結果、新奇物質の探索比率はSAMR-Atorv群で有意な増加が認められた( $p<0.0005$ , vs SAMR-cont)が、SAMP8-2群では差は認められなかつた。しかし、新奇物体を入れた二日目の探索時間については、SAMP8-Atorv群はSAMR-2群と同等であったが、SAMP8-cont群では有意に減少していた( $p<0.05$ , vs SAMP8-Atorv)。帰巣試験の結果、SAMR-2群間、SAMP8-2群間で差は認められなかつた。29週齢時、眼周囲炎はSAMP8-Atorv群で抑制されていた(R-cont群 1匹/5匹、R-Atorv群 1匹/5匹、P-cont群4匹/5匹、P-Atorv群1匹/5匹)。毛並み、動作等については明らかな差は現在認められていない。以上のことから、SAMP8マウスにおいてAtorv投与により筋力低下の抑制、炎症反応の抑制が認められ、Atorvがマウスの老化予防効果を有する可能性が示唆された。また、有意差は認められなかつたものの、Atorvがマウスの不安に対する感受性を増加させる可能性が示唆された。

## 大規模医療情報および遺伝子発現データベースを活用した薬剤性末梢神経障害に対する予防薬の探索

○新村 貴博<sup>1</sup>、座間味 義人<sup>1,2</sup>、川尻 雄大<sup>3</sup>、合田 光寛<sup>2</sup>、岡田 直人<sup>2</sup>、萱野 純史<sup>2</sup>、八木 健太<sup>4</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、福島 圭穂<sup>5</sup>、石澤 有紀<sup>6</sup>、池田 康将<sup>7</sup>、小林 大介<sup>3</sup>、藤野 裕道<sup>5</sup>、島添 隆雄<sup>3</sup>、石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>2</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>3</sup>九州大・院薬・臨床育薬、<sup>4</sup>徳島大学病院・総合臨床研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・生命薬理、<sup>6</sup>徳島大・AWAサポートセンター、<sup>7</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

### [INTRODUCTION]

白金系抗がん剤であるオキサリプラチンは高頻度で末梢神経障害(Oxaliplatin induced peripheral neuropathy: OIPN)を誘発する。この末梢神経障害は、患者のQuality of life (QOL) を著しく低下させるだけでなく投与量の減量や治療の中止にもつながるため、予防薬の開発が求められている。

本研究では、近年、既存承認薬に関する膨大なデータが蓄積・公開されている大規模有害事象データベースおよび遺伝子発現データベースを活用してドラッグリポジショニングを実施することで、ヒトにおける安全性や有効性が期待されるOIPNに対する予防薬を探索した。

### [METHODS]

米国NIHの遺伝子発現データベースLINCSおよびFDAの有害事象報告データベース (FDA Adverse Event Reporting System; FAERS) を解析し、OIPNに対する予防薬候補となる既存承認薬を抽出した。抽出された候補薬剤に関して、OIPNモデルラットを用いたvon Frey testにより痛覚過敏反応に対する有効性を評価した。後根神経節における遺伝子の発現変化はリアルタイムPCRにより評価した。また、オキサリプラチンの抗腫瘍効果を候補薬剤が減弱させないことをColon-26細胞およびBALB/cマウスを用いた担癌マウスモデルにより確認した。in vivoにおいて有効性がみられた薬剤は、徳島大学病院の電子カルテデータを用いた後方視的カルテ調査により効果を検討した。動物実験および後方視的カルテ調査は徳島大学動物実験委員会および徳島大学病院倫理委員会より承認を受けた。

### [RESULTS]

遺伝子発現データベースLINCSおよび有害事象報告データベースFAERSを用いた解析の結果、5種類の薬剤においてOIPNの発症を抑制する傾向がみられ、特に既存承認薬Xでは有意な差が認められた。OIPNモデルラットを用いた検討より、既存承認薬Xはオキサリプラチン誘発痛覚過敏の発現を有意に抑制していた。また、神経組織における抗酸化酵素GSTM1のmRNA発現増加傾向が認められた。担癌マウスモデルの実験結果から、既存承認薬Xがオキサリプラチンの抗腫瘍効果を減弱させないことが確認された。後方視的カルテ調査では既存承認薬X併用群の末梢神経障害発症率が有意に低かった。

### [CONCLUSION]

大規模有害事象データベースおよび遺伝子発現データベースを活用したドラッグリポジショニング研究により、既存承認薬の一つがOIPNの治療薬になり得ることが示唆された。本研究の成果は、ドラッグリポジショニングにおける大規模医療情報データベースや遺伝子発現データベースの活用の有用性を支持するものである。

Y-21

## 光誘発角膜上皮細胞障害に対する新規ラジカルスカベンジャーの保護作用

○石田 紘大<sup>1</sup>、矢古宇 智弘<sup>2</sup>、大津 航<sup>1</sup>、中村 信介<sup>2</sup>、嶋澤 雅光<sup>1,2</sup>、角崎 英志<sup>1</sup>、原 英彰<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岐阜薬科大・バイオメディカルリサーチ講座、<sup>2</sup>岐阜薬科大・薬効解析

【背景】角膜は常に外部環境にさらされており、特に紫外線のほとんどは角膜上皮によって吸収される。紫外線に多量に曝露され続けることによって、強い痛みを伴う角膜上皮障害が生じる（電気性眼炎）。また現代社会において人の眼はPCやスマートフォンなどのディスプレイ（VDT）からの光に晒され続けており、青色LED光を含むVDTの長時間使用は眼の不快感等につながるとされている。紫外線や青色LED光による曝露は細胞に酸化ストレスを与えることが知られているため、本研究ではフリーラジカル捕捉剤NSP-116 [4-(4-アセチルピペラジン-1-イル)-2-(1H-イミダゾール-1-イル)アニリン]による光誘発角膜上皮細胞障害に対する保護作用について検討した。

【方法】96wellプレートにヒト角膜上皮細胞株（HCE-T）を5,000 cell/wellで播種し、24時間後、NSP-116 (1, 3, 10 μM) を1時間処置した。その後5 J /cm<sup>2</sup>の強度で紫外線-A波（UV-A）を照射後、更に24時間培養した。ヨウ化プロピジウム染色及び核染色により死細胞率を、WST-8 assayにより細胞生存活性を計測した。酸化ストレスに対する検討は、活性酸素種（Reactive Oxygen Species : ROS）産生量をROSインジケーターであるCM-H<sub>2</sub>DCFDAを用いて測定した。さらに、アポトーシスの早期指標となるミトコンドリア膜電位をJC-1染色により検出した。加えて、アポトーシス経路に関わるタンパク質の発現について細胞可溶化物を用いたウェスタンブロット法により解析した。同様の検討を青色LED光1,000 lx、24時間照射の障害モデルを用いて行った。

【結果】UV-A及び青色LED光障害に対し、NSP-116は10 μMの濃度で細胞生存活性の低下及び細胞死の増加を抑制した。また、NSP-116 10 μMは、ROS産生量を有意に抑制した。さらに、NSP-116 10 μMは、ミトコンドリア膜電位の低下を抑制し、Creaved-caspase3の発現量を減少させた。

【考察】NSP-116は、光による角膜上皮細胞障害に対する保護作用を示した。さらに、その作用メカニズムは、ROS産生の抑制によるアポトーシスの抑制であることが示唆された。

Y-22

## 遊離アミノ酸量の定量的経時変化解析によるアミノ酸トランスポーター阻害効果の検討

○西窪 航<sup>1</sup>、大垣 隆一<sup>1</sup>、岡西 広樹<sup>1</sup>、奥田 傑<sup>1</sup>、金井 好克<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>大阪大・院医・生体システム薬理、<sup>2</sup>大阪大・先端的学際研究機構・生命医科学フロンティア研究部門

がん細胞は、正常細胞に比べて多くの栄養を必要としており、アミノ酸や糖の取り込みと代謝は、がん治療の標的となり得ると考えられている。L-type amino acid transporter 1 (LAT1, SLC7A5) は、様々な臓器由来のがん細胞で高発現し、細胞内代謝が亢進しているがん細胞におけるアミノ酸取り込みと高い増殖能に寄与している。LAT1は、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、ヒスチジンなどの多くの必須アミノ酸を含む大型中性アミノ酸を細胞内に取り込み、細胞内に豊富に存在するグルタミンなどを交換輸送基質として細胞外に放出していると考えられている。LAT1の阻害薬は、*in vitro* 及び*in vivo*の実験系で顕著ながん細胞増殖抑制、腫瘍増大抑制効果を示し、抗悪性腫瘍薬としての可能性が検討されている。しかし、LAT1を介したアミノ酸の取り込みの阻害によって、がん細胞内の各アミノ酸量がどのように変化し、どのような細胞応答が引き起こされることで抗腫瘍効果がもたらされるのかについては、これまで厳密な解析は行われていない。そこで、本研究は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたアミノ酸定量測定により、LAT1阻害薬添加後のヒト肺臓がん由来細胞株の細胞内遊離アミノ酸量の経時変化を追跡した。その結果、多くのアミノ酸において、LAT1阻害薬添加後、一時的に細胞内含量が増加することが明らかになった。一方で、細胞内含量が減少していたアミノ酸は2種類であったが、LAT1阻害薬が示す細胞増殖抑制効果には、この特定のアミノ酸の減少が重要である可能性が示唆された。同じ実験条件下でおこなった細胞内アミノ酸関連シグナル経路の解析では、LAT1阻害薬によってタンパク質合成の抑制やATP量の低下が引き起こされていることを示唆するデータが得られた。本研究により、LAT1阻害薬のがん細胞増殖抑制効果と、実際の細胞内遊離アミノ酸量の経時変化とを関連付けて理解することが可能になった。特定のアミノ酸の不足と、タンパク質合成の抑制およびATP量低下との間の因果関係の有無や、その分子機構を検証することで、LAT1阻害薬のがん細胞増殖抑制メカニズムの解明に繋がるものと期待される。

Y-23

## 分裂酵母モデル系を用いた $\alpha$ -シヌクレイン凝集体形成メカニズムの探索とメンブレントラフィックの関わり

○杉本 恵崇、高崎 輝恒、佐藤 亮介、濱田 耕造、杉浦 麗子

近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学研究室

パーキンソン病は中脳・黒質線条体のドパミン神経の脱落により、振戦、無動、筋固縮などの症状を引き起こす神経変性疾患である。パーキンソン病は神経細胞に過剰に発現した $\alpha$ -シヌクレインが凝集・蓄積し、神経変性や細胞死を引き起こすことが知られているが、その詳細は不明である。 $\alpha$ -シヌクレイン凝集体形成メカニズムを探索する目的で、真核生物の優れたモデルである分裂酵母を用いた解析を行った。GFP融合 $\alpha$ -シヌクレインを酵母細胞に異所性に発現させ、 $\alpha$ -シヌクレイン発現量の変動に伴う細胞内局在のモニタリングを行った。その結果、 $\alpha$ -シヌクレインは低発現時には細胞膜の両成長端および中隔に局在するが、高発現時には凝集体を形成するとともに、細胞毒性を示すことから、 $\alpha$ -シヌクレイン凝集体形成と細胞毒性に機能的連関が存在すると推察された。興味深いことに、エンドソームやゴルジ体を可視化するFM4-64を用いて解析を行った結果、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集体とFM4-64が共局在することが明らかになった。そこで、膜を破壊する界面活性剤として10% Tritonを加え、 $\alpha$ -シヌクレイン凝集体に与える影響を解析した。その結果、大部分の凝集体は消失し、 $\alpha$ -シヌクレインは核や細胞全体にトランスポーションしたことから、凝集体は膜を起点として形成されることが示唆された。次に、 $\alpha$ -シヌクレインと細胞内輸送の関わりを調べる目的で、v-SNAREタンパクであるSyb1の局在に影響を与えるかを検討した。Syb1は野生細胞においては $\alpha$ -シヌクレイン同様、成長端や中隔に局在するが、 $\alpha$ -シヌクレイン過剰発現細胞ではこれらの部位への局在が失われる。同様のSyb1の局在異常はクラスリンアダプターAP-1コンプレックスのアクセサリータンパク質変異体*sip1-i4*, AP-1アダプターコンプレックスノックアウト細胞 $\Delta apm1$ , 低分子量Gタンパク質Rab 11の変異体*ypt3/its5*でも観察されることから、 $\alpha$ -シヌクレインはRab11やクラスリンアダプターAP-1複合体により制御されるゴルジ・エンドゾーム膜輸送システムと機能的に関わる可能性が示唆された。

Y-24

## DEAD-box型RNA helicase DDX3/Ded1によるPKC/MAPKシグナル抑制機構の解析

○富本 尚史、神田 勇輝、Chun An Tsai、佐藤 亮介、高崎 載恒、杉浦 麗子

近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学

PKC/MAPKシグナル伝達経路は高度に保存されたシグナル伝達経路であり、細胞増殖やストレス応答、がん化に関わる。当研究室では、PKC/Pck2過剰発現依存的な表現型を用いた新規MAPKシグナル制御因子探索法により、PKC/MAPKシグナルの新たな制御因子としてDEAD box型RNA helicaseであるDed1を同定した。Ded1はヒトDDX3の分裂酵母ホモログで、翻訳やmRNAの安定性の制御等を行う他、がん等に関与するストレス顆粒(SG)の構成因子であることも報告されてきた。しかし、DDX3/Ded1によるPKC/MAPKシグナルの制御機構は未だ明らかにされていない。当研究室では、Pck2が熱ストレス(HS)依存的にSGに移行することで、Pck2/Pmk1シグナルが抑制されることを示唆した。私たちは、Ded1がSG形成に重要な役割を持つため、Ded1がPck2のSG移行を促進することで、Pck2/Pmk1シグナルを抑制する可能性を考え、その解明を試みた。

始めに、Pmk1 MAPKシグナルの活性がDed1に与える影響を解析するためにHS温度別で検証を行った。過去に、低熱ストレス条件下(LHS)ではPck2のキナーゼ活性が一定に保たれる一方、高熱ストレス条件下(HHS)ではPck2の急激なキナーゼ活性の低下が見られた。この時、HHSのDed1はLHSのDed1よりもSGへ移行した。次に、Pck2欠損細胞やPmk1欠損細胞を作製しDed1の局在をそれぞれ観察した。すると、Pck2欠損細胞は正常細胞と比較してDed1のSG移行が遅延したが、Pmk1欠損細胞ではDed1のSG移行の遅延は見られなかった。興味深いことに、Pck2欠損細胞やPmk1欠損細胞におけるDed1のリン酸化は、正常細胞と比較して変化は見られなかった。以上から、Ded1はPck2のキナーゼ活性非依存的にSGへ移行する可能性を示唆した。しかし、Pck2欠損細胞においてDed1のリン酸化レベルに変動が無いため、Pck2はDed1へのリン酸化以外によってDed1のSG移行をコントロールしている可能性が考えられた。今回、私はPKC/MAPKシグナルがDed1のSG移行に影響を及ぼすか否かを検証により、Ded1によるPKC/MAPKシグナル制御のメカニズム解明を試みたので報告する。

## ロテノン誘発ミトコンドリア障害に対する小胞体ストレスの関与

○青山 八曇、稻垣 賢、岩田 悠暉、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰

岐阜薬科大・薬・薬効解析

**【背景】** レーベル遺伝性視神経症 (Leber's hereditary optic neuropathy: LHON) は、ミトコンドリアDNA (mtDNA) の点変異 (11778G>A、14484T>C及び3460G>Aなど) によるミトコンドリア呼吸鎖複合体I (Complex I) の機能不全に環境因子が加わることで発症する網膜神経節細胞 (Retinal ganglion cells: RGCs) 特異的な変性及び脱落を主徴とするミトコンドリア病の一型である。現在、我が国においては年間約160人の新規患者が報告されている。LHONの治療薬は、欧州においてイデベノンが唯一承認されており、LHON発症早期の視力低下に対する治療効果が報告されている。しかし、イデベノンが効果を示さない患者も存在するなど、その治療法は十分とは言えず、LHONの発症及び進展メカニズムの解明並びに新たな治療法の開発が求められている。そこで本研究では、ロテノン (Complex I阻害剤) 誘発ミトコンドリア障害モデルを用いて、RGCsに対して保護作用を有する化合物の探索を行った。

**【方法】** 本研究では、過酸化水素による酸化ストレス、ツニカマイシンによる小胞体ストレス及びリポ多糖(LPS) による炎症反応への保護作用を有することが報告されている化合物を用いてスクリーニングを行った。網膜神経節細胞株 (RGC-5) に化合物を添加し、1時間後にロテノン ( $1 \mu M$ ) を添加してミトコンドリア障害を惹起した。ロテノン添加から24時間後に、Hoechst 33342、Propidium Iodideを用いた核染色を行い、細胞死評価を行った。また、保護作用を示した化合物に対して濃度依存的な細胞保護効果及びJC-1 MitoMP Detection Kitを用いたミトコンドリア膜電位評価を行った。さらに、ロテノンによる小胞体への影響をウエスタンブロッティングにより評価した。

**【結果】** 化合物スクリーニングの結果、小胞体ストレスに対して保護作用を有するSUN N8075が細胞保護効果を示すことを見出した。SUN N8075 ( $0.3\text{--}3 \mu M$ ) は、ロテノン誘発ミトコンドリア障害に対して濃度依存的な細胞保護作用を示し、ミトコンドリアの膜電位の低下抑制作用を示した。さらに、小胞体ストレス関連因子についての評価を行ったところ、ロテノン障害により小胞体ストレス関連因子であるBiP及びATF4の発現上昇が認められた。

**【考察】** SUN N8075は、ロテノン誘発ミトコンドリア障害に対して細胞保護作用及びミトコンドリア保護作用を有することが示唆された。また、ロテノン障害により小胞体ストレス応答が亢進することが示唆された。したがって、小胞体ストレスに対して保護作用を有する化合物が、ミトコンドリア機能低下により悪化するLHONの治療薬となりうる可能性が示唆された。

## フルオロロキソプロフェンの小腸粘膜におよぼす影響

○増田 侑哉<sup>1</sup>、加藤 大輔<sup>1</sup>、山川 直樹<sup>2</sup>、水島 徹<sup>3</sup>、天ヶ瀬 紀久子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>立命館大・薬・病態薬理学研究室、<sup>2</sup>就実大・薬、<sup>3</sup>LTTバイオファーマ

**【目的】** 抗炎症薬(Non-steroidal anti-inflammatory drug ; NSAID)のひとつであるロキソプロフェン(LOX)は臨床において汎用されているものの、いまだに消化管に対する傷害性は臨床においては問題である。LOXの誘導体であるフルオロロキソプロフェン(F-LOX)は、LOXと同程度の抗炎症作用を持つにも関わらず、胃粘膜への影響が少ないNSAIDであると報告されている。F-LOXが小腸粘膜に対してもLOXと比較して低傷害性を示せば、より安全なNSAIDとして提案することができる。そこで本研究では、新規に合成された抗炎症薬F-LOXの小腸粘膜に及ぼす影響を検討した。

**【方法】** 雄性SDラット(6週齢)に、LOX (30, 60 mg/kg) およびF-LOXを経口投与した24時間後に剖検し、傷害面積を解剖顕微鏡下に測定した。病理組織学的観察は、パラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を施すことにより行った。LOXおよびF-LOXの経口投与3時間後に、小腸粘膜のPGE<sub>2</sub>産生能をエンザイムイムノアッセイで測定した。腸粘膜の炎症の指標としてミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性をo-dianisidine法によって測定した。

**【結果】** LOXの投与24時間後において、空・回腸部を中心とした小腸粘膜に出血性の損傷が観察された。F-LOX投与群においても出血性の損傷が認められたが、LOX投与群と比較すると傷害面積は小さく損傷の深さは浅かった。病理組織を観察したところ、損傷の程度はLOX投与群に比べて、F-LOX投与群では上皮細胞の傷害程度が弱いことが観察された。LOX投与3時間後的小腸粘膜のPGE<sub>2</sub>産生能は、溶媒投与群と比較して有意に低下し、F-LOX投与群でも同程度低下していた。またMPO活性は、LOXおよびF-LOX投与3時間後では対照群と比較してほとんど差は認められなかった。

**【考察】** F-LOXはLOXと同様の抗炎症作用を持ちながら、小腸粘膜に対する傷害性の低いNSAIDであることが示された。F-LOXはモルモット胃粘膜においてcAMPの産生を増加させることが報告されていることから、F-LOXの低傷害性はcAMP増大による腸液分泌の増加が考えられる。またNSAIDはPG産生低下に基づいた消化管粘膜の粘液分泌量の低下を引き起こすことが明らかとなっており、F-LOXは粘液分泌への関与も考えられる。

Y-27

## フッ素原子に着目した胃潰瘍を起こしにくいNSAIDsの抗炎症効果に関する検討

○藤井 悠太<sup>1</sup>、寺本 恵実菜<sup>1</sup>、山川 直樹<sup>2</sup>、田坂 祐一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>就実大・薬・臨床薬学研究室、<sup>2</sup>就実大・薬・医薬品合成化学研究室

**【目的】** 非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）は、消炎・鎮痛薬として臨床で広く使用されている。しかしながら、一般的にNSAIDsの服用には胃潰瘍などの消化管障害を伴うため、胃粘膜保護剤などが併用される。そのため、胃潰瘍などの消化管障害が少なく、より安全なNSAIDが求められる。これまでに我々の研究グループは、フルルビプロフェン（FB）を対象化合物として、芳香族の8位にフッ素原子が結合したFB異性体（8FB）を創製し、*in vitro*において、8FBはFBと同等のCOX阻害活性を有し、FBに比べ膜障害性が低いことを見出した。また、*in vivo*において胃潰瘍形成作用の比較検討を行ったところ、FBは代表的なNSAIDsであるロキソプロフェンと同程度に胃潰瘍を惹起すること、8FBではFBに比べて有意な胃潰瘍形成作用の低下が認められることを見出した。これらのことから、8FBは消化管への副作用を起こしにくいNSAIDであることが期待される。そこで今回、*in vivo*におけるFBおよび8FBの抗炎症作用についての比較検討を行った。

**【方法】** 170～240gのSD系雄性ラットにFB、あるいは8FBをそれぞれ10 mg/kg経口投与した。1時間後に1%カラゲニン100 μLを足蹠に皮下注射し、1時間ごとに足蹠の浮腫率（△paw thickness）を測定した。

**【結果・考察】** FB投与群および8FB投与群の浮腫率を比較したところ、FB投与群と8FB投与群ではVehicle群に比べて有意な浮腫率の抑制が認められ、FBのフッ素原子の結合位置を芳香族の3位から8位へ変更しても抗炎症効果を有することが明らかになった。また、FB投与群と8FB投与群の浮腫率はほぼ同程度であり、8FBはFBと同程度の抗炎症作用を有することが示唆された。これらの結果から、*in vivo*においても8FBはFBと同等の抗炎症作用を有し、かつ消化管への副作用を起こしにくいNSAIDであることが期待される。

Y-28

## 薬剤誘発性急性大動脈疾患に対するケルセチンの抑制効果

○近藤 正輝<sup>1,2</sup>、石澤 有紀<sup>3</sup>、合田 光寛<sup>1</sup>、鈴木 琴子<sup>2</sup>、松岡 里英<sup>1,2</sup>、座間味 義人<sup>1,2</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、池田 康将<sup>5</sup>、石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>2</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>3</sup>徳島大・AWAサポートセンター、<sup>4</sup>徳島大学病院・総合臨床研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

### [背景・目的]

Angiotensin II (Ang II) と  $\beta$ -aminopropionitrile (BAPN) のマウスへの負荷は、高血圧と弾性板の変性を引き起こし、その結果、大動脈瘤 (AA) が発症することが報告されている。病因の一つとして、これらのマウスでは大動脈壁の炎症と内皮細胞の損傷が観察されている。タマネギに豊富なケルセチンは、心血管疾患のリスクを減らすことが示唆されている。本研究では、AAに対するケルセチンの効果を検討した。

### [方法]

C57BL/6J雄性マウスにAng IIを6週間、BAPNを2週間、皮下埋め込み式浸透圧ポンプを用いて持続投与を行い、これらを大動脈瘤モデルマウス (Ang II+BAPN, AB群) として実験に用いた。ケルセチンはポンプを埋め込む2週間前から連日経口投与した。単離したマウス大動脈を用い、組織学的分析、蛋白またはmRNA発現の測定、ザイモグラフィーアッセイ、および免疫染色を行った。

### [結果]

ケルセチンによりAAの発症率は低下した。大動脈の弾性板形態変化（変性、崩壊）は、AB群と比較して、ケルセチン投与によって抑えられた。大動脈におけるマトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP)-2活性は、AB群で上昇し、ケルセチンによって抑制された。また、ケルセチンはAB群で増加したpro MMP-9発現を抑制した。マクロファージのマークターであるF4 / 80、血管内皮細胞傷害を示すvascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) の免疫染色によりAB群では大動脈壁において炎症が惹起されていたが、ケルセチン投与群では抑制されることを示した。培養ヒト臍静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いた検討より、ケルセチンはtumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ によって増加したVCAM-1発現を阻害し得ることが明らかとなった。また、ケルセチンはHUVECにおいてTNF- $\alpha$ による一酸化窒素合成酵素発現低下を回復した。さらにケルセチン刺激は、内皮細胞保護分子として知られるERK5を活性化した。

### [考察]

これらの結果から、ケルセチンは抗炎症作用と血管内皮細胞保護作用を示すことで、AA発症を防ぐ可能性があることが示唆された。

## 5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬併用によるシスプラチン誘発腎機能障害に与える影響

○神田 将哉<sup>1,2</sup>、合田 光寛<sup>1,2</sup>、吉岡 俊彦<sup>1,2</sup>、吉田 愛美<sup>2</sup>、新村 貴博<sup>2</sup>、石澤 有紀<sup>3</sup>、  
座間味 義人<sup>1,2</sup>、中馬 真幸<sup>4</sup>、濱野 裕章<sup>1</sup>、岡田 直人<sup>1</sup>、池田 康将<sup>5</sup>、桐野 靖<sup>1</sup>、中村 敏己<sup>1</sup>、  
石澤 啓介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>徳島大学病院・薬剤部、<sup>2</sup>徳島大・院医歯薬・臨床薬理、<sup>3</sup>徳島大・AWAサポートセンター、<sup>4</sup>徳島大学病院・総合臨床試験研究センター、<sup>5</sup>徳島大・院医歯薬・薬理学

【背景・目的】シスプラチンは多くの固体癌の標準治療に用いられているが、副作用として恶心・嘔吐および腎障害の発生頻度が高いことが知られている。基本的な制吐薬の一つである5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬は、第一世代のオンダンセトロン、第二世代のパロノセトロンなど多くの種類があり、化学療法レジメンによって使い分けられているのが現状である。また、シスプラチンおよびオンダンセトロンはMultidrug and toxin extrusion (MATE) 型輸送体を介して排泄されることが知られており、オンダンセトロンがシスプラチン誘発腎障害発症のリスク因子となる可能性が示唆されている。そこで、本研究では、各種5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬のシスプラチン誘発腎障害に対する影響を検討した。

【方法】C57BL6雄性マウスを用いて、シスプラチン(15 mg/kg, i. p.)投与によりシスプラチン誘発腎障害モデルを作製し、各種腎機能パラメーターおよび病理学的評価により腎障害の程度を評価した。また、組織中シスプラチン量は原子吸光光度計を用いて測定した。各種5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬はシスプラチン投与30分前に投与した。また、FAERS（大規模副作用症例報告データベース）を用いて、各種5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬のシスプラチン誘発腎障害に対する影響を解析した。

【結果】シスプラチン投与により誘発された腎障害は、第一世代のオンダンセトロンの前投与により有意な増悪が認められたが、第二世代のパロノセトロンの前投与では、シスプラチン単独投与群と比較して悪化が認められなかつた。オンダンセトロンの前投与により、腎臓中のシスプラチン蓄積量が有意に増加した。FAERS解析の結果、シスプラチンと第一世代5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬との併用により腎障害の報告オッズ比が1より大きくなることが明らかになった。

【考察】本研究の結果より、第二世代5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬は第一世代と比較してシスプラチン腎障害に対する影響が少ない可能性が示唆される。