

The 134th Kinki Branch Meeting in Kobe

第134回

日本薬理学会近畿部会

プログラム・要旨集

2018年11月23日(金)

神戸



The Japanese Pharmacological Society



第134回 日本薬理学会 近畿部会

2018年11月23日(金)

神戸学院大学ポートアイランドキャンパス

(〒650-8586 神戸市中央区港島1-1-3)

部会長 徳山 尚吾

事務局：神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室

〒650-8586 神戸市中央区港島1-1-3

TEL: 078-974-1551 FAX: 078-974-4780

E-mail: kinki134@pharm.kobegakuin.ac.jp

INDEX

巻頭言	1
会場アクセス	2
会場内案内図	4
お知らせとお願い	5
会場・進行時間・座長一覧表	8
プログラム	9
発表要旨	
ランチョンセミナー	20
A会場	21
B会場	37
C会場	51
事前登録者名簿	65
謝辞	71

巻頭言

第134回日本薬理学会近畿部会の 開催に際しまして

第134回日本薬理学会近畿部会

部会長 徳山 尚吾 神戸学院大学 薬学部
臨床薬学研究室 教授

このたび、第134回日本薬理学会近畿部会を、平成30年(2018年)11月23日(金)に神戸学院大学ポートアイランドキャンパスにおきまして開催する運びとなりました。事前参加、演題登録等におきまして、多くの先生方にご理解とご協力を賜りましたことに心から御礼申し上げます。

一般演題は最終的に67題を頂戴いたしました。その内39題は学部学生や大学院生による優秀発表賞の審査対象になります。活発なご発表、意見交換が行われるとことを期待致しております。

ランチョンセミナー(日本ケミファ株式会社と共催)では、近畿大学薬学部病態薬理学研究室教授の川畑篤史先生に「Ca_v3.2 T型カルシウムチャネル —どこで何をしているのか?—」についてご講演いただきます。

また、本会の同時開催企画として市民公開講座を行わせていただきます。神戸大学大学院医学研究科精神医学分野教授の曾良一郎先生をお招きして、「インターネット嗜癖による問題 —ゲーム依存・SNS依存について—」のタイトルにてご講演いただきます。社会的に注目されている話題であり、多くの一般市民の皆様方のご参加をお待ちしております。

学会終了後には懇親会を開催いたしますので、情報交換や懇親の場として活用していただけますと幸いに存じます。現在定員に多少の余裕がございますので、当日お申し込み下さい。

神戸はエキゾチックな雰囲気のあるエリアであり、観光、温泉、お酒など、学会以外でもお楽しみいただけるものと思います。一人でも多くの先生方にご参加いただき、本会を盛り上げていただければと存じます。当日、先生方とお会いできますことを楽しみに致しております。

末筆ではございますが、今回の開催を通じて、薬理学の研究が一步でも前進するとともに、今後本学会のさらなる発展を祈念致しております。

会場アクセス

神戸学院大学ポートアイランドキャンパス

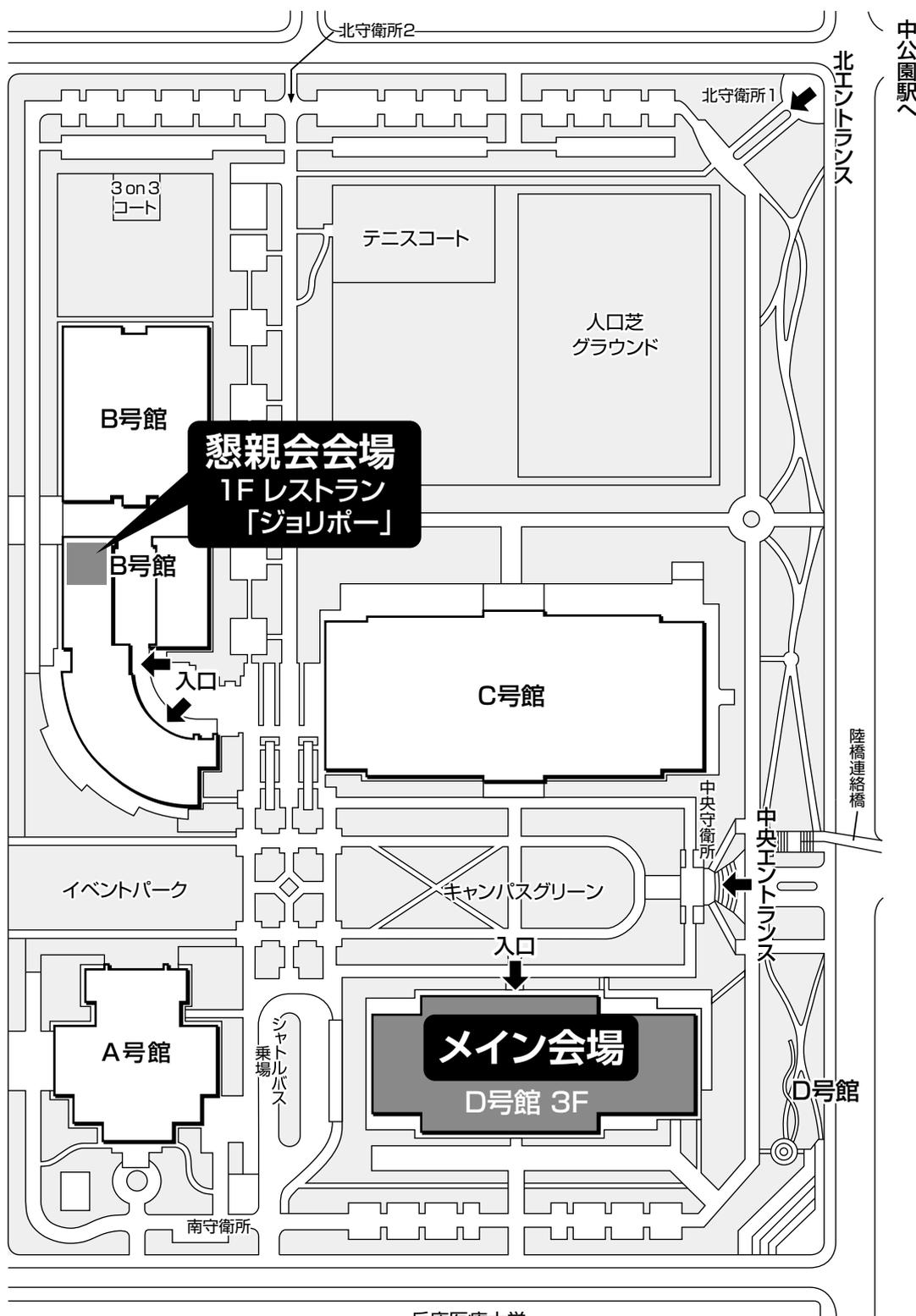
(〒650-8586 兵庫県神戸市中央区港島1-1-3)



会場へのアクセス

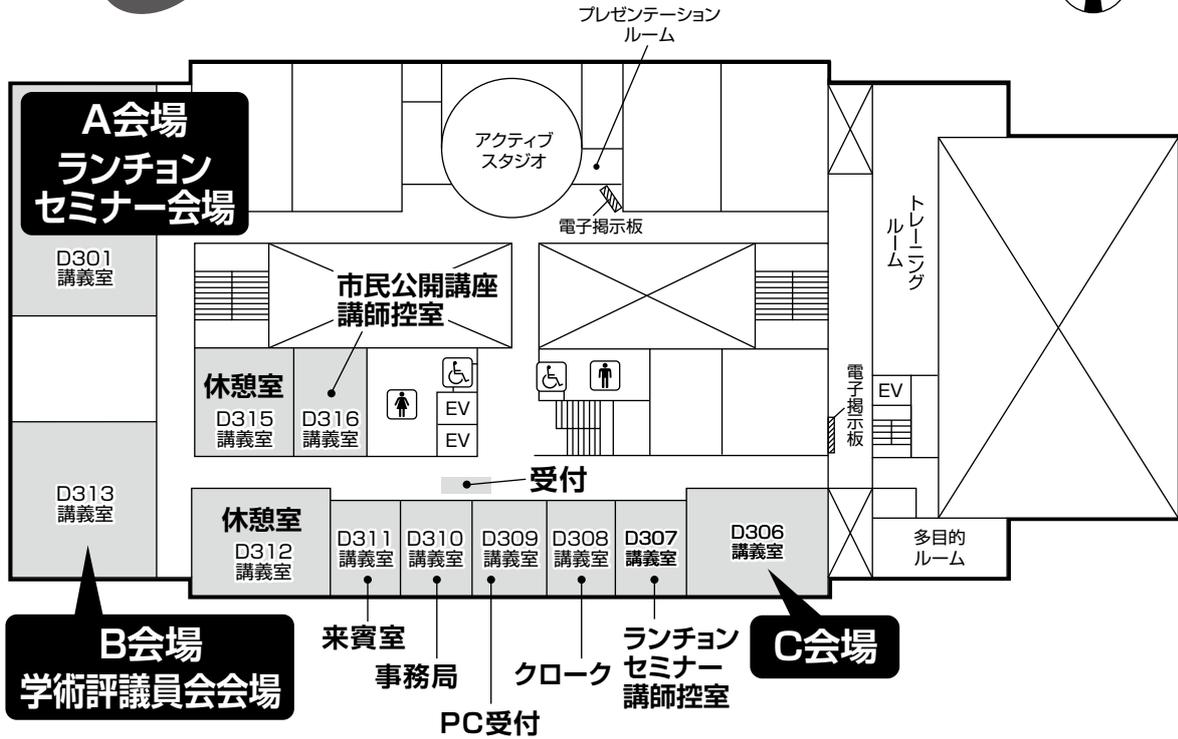
- **電 車** …………… JR神戸線「三ノ宮駅」、阪急・阪神「神戸三宮駅」神戸市営地下鉄「三宮駅」からのりかえ。
神戸新交通ポートライナー「みなとじま駅」下車、西へ徒歩約6分。
- **直通バス***…………… 三ノ宮駅「そごう前・キャンパス線」のりばから
「神戸学院大学ポーアイキャンパス行」に乗車し、約12分。
神戸駅「神戸駅南口（ポーアイキャンパス線）」のりばから
「ポーアイキャンパス行」に乗車し、約15分。
- **神戸空港から** …… 神戸新交通ポートライナー「みなとじま」駅下車、西へ徒歩約6分。
- **車** …………… 大学内には駐車場がございませんので、周辺の有料駐車場をご利用ください。
※休校日ダイヤにて運行。時刻表は大学ホームページの交通アクセスをご覧ください。

ポートアイランドキャンパス 校舎配置図



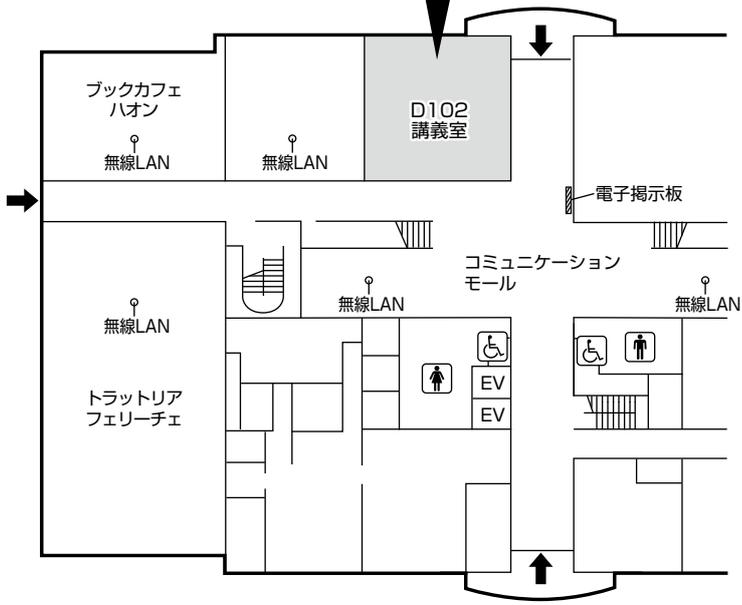
会場内案内図

D号館 3F



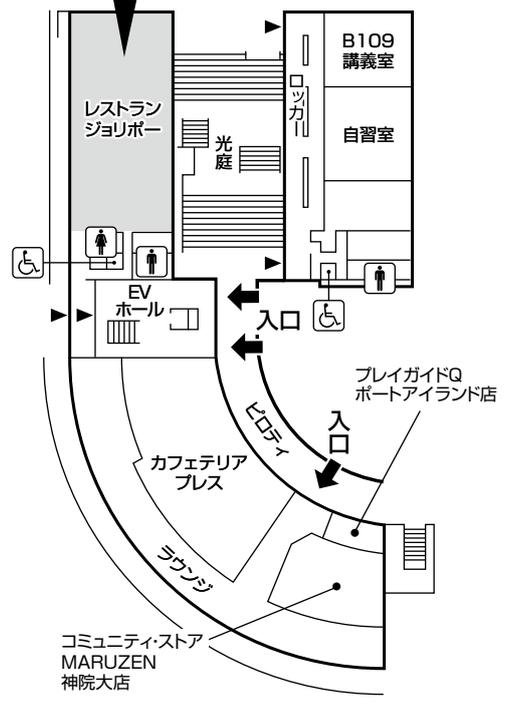
D号館 1F

市民公開講座 会場



B号館 1F

懇親会会場



お知らせとお願い

1. 会場内、敷地内は禁煙です。
2. 総合受付はD号館3階にて8時15分より開始いたします。
3. 記名台に準備してあるホルダーに参加証を入れてご使用ください。参加証をお忘れの方、また紛失された方は総合受付にお申し出ください。
4. 当日参加の方は総合受付で参加費登録をお願いいたします。参加証およびプログラム・要旨集をお渡し致します。

当日参加費

学術評議員	6,000円
一般会員(一般)	5,000円
一般会員(研修医)	2,000円(当日受付にて研修医証明書提示)
非会員	6,000円
大学院生	2,000円(当日受付にて学生証提示)
学部学生	無 料(当日受付にて学生証提示)

5. 3階ロビーにて伝言板を用意いたします。会場内の呼び出し等にご利用ください。
6. 会場内での写真撮影およびビデオ撮影は固くお断りいたします。
7. 休憩室(D号館3階D315、D312)にドリンクコーナーを設けます。数に限りがありますので予めご了承ください。

演者の先生へ

【注意事項】

スライド1枚目に利益相反(COI)に関するスライドを入れてください。COIスライドは日本薬理学会ホームページよりダウンロードできます。

【発表準備のために】

1. 発表はすべて液晶プロジェクターを用いたPowerPointによるプレゼンテーションで、一画面のみとします。発表者ツールを用いることはできません。
2. 会場で使用するコンピュータ(PC)のOSはWindows10のみ、アプリケーションはPowerPoint2016のみです。
3. コンピュータの持ち込みによる発表は受け付けません。必ずPowerPointデータをUSBディスクでお持ちください。
4. 発表用データファイルは、ファイル名を「演題番号+名字(ローマ字)」(例:A-01-Kobegakuin.pptx)とし、保存したUSBメモリーをご持参ください。USBメモリーには発表用ファイル以外入れないでください。また、バックアップ用として、データを保存した別のUSBメモリーもご用意いただくことをおすすめいたします。
5. 発表用データファイルは一度ハードディスク、USBメモリーにコピーさせていただきます。ファイルは発表終了後、事務局が責任を持って消去いたします。

【発表当日】

1. 3階 PC 受付にて、発表予定時刻の60分前までにデータ動作を確認してデータを預けてください。8時30分より PC 受付を開始いたしますので、朝早い発表の方はなるべく早い時間に受付にお越しください。
2. 発表の10分前には次演者席にお着きください。
3. 当日の口演の取り消し、演者の変更があれば、総合受付までご連絡ください。

【発表方法】

1. 口演時間は9分、討論時間は演者の交代を含めて3分です。時間厳守にご協力願います。
2. 口演中は座長の指示に従ってください。
3. ご自身で舞台上のパソコンを操作してプレゼンテーションを行ってください。
4. 演台には、マイク、レーザーポインタ、PC とマウスが用意されています。
5. 口演の残り時間は、舞台上のタイマーに表示されます。
6. 開始時に緑色のライトが点灯します。終了1分前に黄色のライトが点灯します。開始から9分が経過すると発表終了の合図として赤色のランプが点灯します。その際、計時係がベルを1回鳴らします。その後、3分間の討論時間が終了するとベルを2回鳴らします。口演時間の厳守をお願いします。

【学生優秀発表賞について】

学生優秀発表賞の結果は、16時45分までに D 号館3階掲示板にて掲示します。
授賞式は、懇親会にて行いますので受賞者は必ず出席をお願いいたします(招待です)。

【座長、審査員の先生方へ】

1. 座長の先生は、ご担当いただくセッションの30分前までに、各会場前の座長受付で受付をお済ませになり、セッションの10分前までに会場内にお入りください。学生優秀発表賞選考セッションの座長の先生には、審査もお願いいたします。
2. 口演時間は9分、討論時間は演者の交代を含めて3分です。セッションの進行はすべて座長にお任せいたしますので、よろしく願いいたします。
3. 時計と照明などは進行補助が担当いたします。
4. 学生優秀発表賞の審査用紙は、セッションが終了後、速やかにご記入いただき、16時までに各会場前の座長受付へご提出くださいますようお願いいたします。

【学術評議員の先生へ】

学術評議委員会は、13時20分から、D 号館3階 D313(B 会場)にて行います。会場前の受付(13時05分から)で必要書類をお受取りください。
なお、ご昼食はランチョンセミナーにてお取りください。

【食事・荷物のお預かり】

昼食はランチョンセミナー(A 会場 D301 講義室：12時～12時50分)をご利用ください。
8時15分より17時30分まで3階のクロークをご利用いただけます。
懇親会の際は、会場内入り口周辺フロア内にお荷物を置くことができます。

【懇親会について】

学会当日17時45分から、本学B号館1階ジョリポーレストランにて懇親会を行います。当日参加をご希望の方は、総合受付にお申し込みください。多数のご参加をお待ちしております。

【薬剤師研修センター認定】

本会は薬剤師研修センター認定の学術集会です。ご希望される薬剤師の方には、(財)日本薬剤師研修センターの受講認定シールを配布いたしますので、研修手帳をお持ちの上、D号館3階総合受付にお申し出ください。

会場・進行時間・座長一覧表

日時：2018年11月23日(金) 会場：神戸学院大学 ポートアイランドキャンパス D号館 3F

	A会場(D301)		B会場(D313)		C会場(D306)		D会場(D102)
9:25~9:30	開会の辞						会場：A会場(D301)
9:30~9:42	A-01	中枢神経1 座長 金子 周司 森岡 徳光	B-01	心・血管・ 免疫関連細胞 座長 高橋 英夫 喜多 紗斗美	C-01	生殖器・腎・ 泌尿器 座長 西堀 正洋 西山 成	
9:42~9:54	A-02		B-02		C-02		
9:54~10:06	A-03		B-03		C-03		
10:06~10:18	A-04		B-04		C-04		
10:18~10:30	A-05		B-05		C-05		
休憩							
10:40~10:52	A-06	学生優秀 発表賞1 座長 山田 清文 田村 豊	B-06	学生優秀 発表賞2 座長 岸岡 史郎 小山 豊	C-06	学生優秀 発表賞3 座長 大野 行弘 田熊 一徹	
10:52~11:04	A-07		B-07		C-07		
11:04~11:16	A-08		B-08		C-08		
11:16~11:28	A-09		B-09		C-09		
11:28~11:40	A-10		B-10		C-10		
11:40~11:52	A-11		B-11		C-11		
休憩							
12:15~13:05	ランチョンセミナー 共催：日本ケミファ株式会社						会場：A会場(D301)
休憩							
13:20~14:20	日本薬理学会近畿部会 学術評議委員会						会場：B会場(D313)
休憩							
14:30~14:42	A-12	学生優秀 発表賞4 座長 酒井 規雄 金田 勝幸	B-12	学生優秀 発表賞5 座長 荻田 喜代一 金井 好克	C-12	学生優秀 発表賞6 座長 矢部 千尋 富田 修平	市民公開講座 (15:00~16:30) (14時から受付開始) インターネット嗜癖 による問題 ーゲーム依存・SNS 依存についてー 演者：曾良 一郎 座長：古屋敷 智之
14:42~14:54	A-13		B-13		C-13		
14:54~15:06	A-14		B-14		C-14		
15:06~15:18	A-15		B-15		C-15		
15:18~15:30	A-16		B-16		C-16		
15:30~15:42	A-17		B-17		C-17		
15:42~15:54	A-18		B-18		C-18		
休憩							
16:04~16:16	A-19	中枢神経2 座長 前田 定秋 小澤 光一郎	B-19	末梢神経・骨格 筋・骨・個体 座長 川畑 篤史 大澤 匡弘	C-19	免疫・細胞 座長 大矢 進 森 秀治	
16:16~16:28	A-20		B-20		C-20		
16:28~16:40	A-21		B-21		C-21		
16:40~16:52	A-22		B-22		C-22		
16:52~17:04	A-23						
17:10~17:15	閉会の辞						会場：A会場(D301)
17:45~19:45	懇親会・表彰式						会場：ジョリポーレストラン B号館 1階

プログラム

プログラム

A 会場 (D301)

中枢神経 1 9:30~10:30

座長：金子 周司 (京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析)

森岡 徳光 (広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 薬効解析科学)

A-01 ミクログリア可視化マウスの三次元蛍光イメージング

○内田 仁司¹⁾、阿部 学²⁾、田井中 一貴³⁾、三國 貴康¹⁾、崎村 建司²⁾

1) 新潟大・脳研・細胞病態、2) 新潟大・脳研・モデル動物開発、3) 新潟大・脳研・システム脳病態

A-02 マウス反復社会挫折ストレスにより誘導されるミクログリアのエピゲノム解析

○谷口 将之¹⁾、北岡 志保¹⁾、門田 満隆²⁾、工樂 樹洋²⁾、古屋敷 智之¹⁾

1) 神戸大・院医・薬理、2) 理研・生命機能科学研究センター 分子配列比較解析ユニット

A-03 断眠ストレスや社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化の解析

○永井 裕崇

神戸大・院医・薬理

A-04 ノシセプチン受容体および μ オピオイド受容体に作用する2機能性アゴニストの新規鎮痛薬としての可能性

○木口 倫一¹⁾、Ding Huiping²⁾、岸岡 史郎¹⁾、Zaveri Nurulain³⁾、Ko Mei-Chuan²⁾

1) 和歌山県医大・医・薬理、2) ウェイクフォレスト大・医・生理薬理、3) アストレア・セラピューティクス

A-05 神経障害性疼痛に関与するマクロファージ/ミクログリアの機能解析

○雑賀 史浩、木口 倫一、小林 大地、松崎 伸介、岸岡 史郎

和歌山県医大・医・薬理

学生優秀発表賞 1 YIA 10:40~11:52

座長：山田 清文 (名古屋大学 大学院医学系研究科 医療薬学・附属病院薬剤部)

田村 豊 (福山大学 薬学部 薬理)

A-06 脳内 n-3 系脂肪酸の減少はストレス暴露後の痛みを増悪させる

○相澤 風花¹⁾、山下 琢矢²⁾、中本 賀寿夫¹⁾、糟谷 史代²⁾、徳山 尚吾¹⁾

1) 神戸学院大・薬・臨床薬学、2) 神戸学院大・薬・毒性

A-07 加齢による認知機能低下における TRPM2 の病態生理学的役割

○抱 将史、宮之原 遵、永安 一樹、白川 久志、金子 周司

京都大・院薬・生体機能解析

A-08 アストロサイトにおける Cx43 発現低下はモノアミンによる神経栄養因子産生を増強させる

○近藤 峻、原田 七瀬、瀧本 朋代、中村 庸輝、中島 一恵、仲田 義啓、森岡 徳光

広島大・院医歯薬保健・薬効解析科学

A-09 トリメチルスズ誘発海馬損傷によるアストロサイトの増殖と抑うつ行動の発現

○佐藤 桂子^{1,2)}、長谷部 茂¹⁾、荻田 喜代一³⁾、中澤 敬信¹⁾、田熊 一敏^{1,4)}

1)大阪大・院歯・薬理、2)大阪大・院歯・第二口腔外科、3)摂南大・薬・薬理、
4)大阪大・院・大阪大・金沢大・浜松医大連合小児発達学研究所

A-10 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)トランスジェニックマウスにおけるうつ様行動の変化

○大塚 青海、三島 脩太、松内 省太、橋川 直也、橋川 成美

岡山理科大・理・臨床生命

A-11 うつ病モデルマウスでのベンゾジアゼピン系睡眠薬の作用減弱における外側視床下部オレキシン神経の関与

○清水 佑美¹⁾、今井 哲司¹⁾、宮山 大¹⁾、辻 光貴¹⁾、浅岡 希美²⁾、中川 貴之¹⁾、金子 周司²⁾、松原 和夫¹⁾

1)京都大・病院・薬剤部、2)京都大・院薬・生体機能解析

学生優秀発表賞4 YIA 14:30～15:54

座長：酒井 規雄(広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 神経薬理)
金田 勝幸(金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 薬理)

A-12 糖尿病性神経障害における冷過敏応答に血流障害による TRPA1 過敏化が関与する

○矢野 佑一¹⁾、緋山 遥¹⁾、宗 可奈子²⁾、今井 哲司³⁾、永安 一樹¹⁾、白川 久志¹⁾、中川 貴之³⁾、金子 周司¹⁾

1)京都大・院薬・生体機能解析、2)京都大・院薬・附属統合薬学教育開発センター、
3)京都大・病院・薬剤部

A-13 糖尿病モデルマウスで生じる網膜神経節細胞死に対する apelin の保護作用

○柴垣 郁弥、石丸 侑希、鈴木 麻友、山室 晶子、吉岡 靖啓、前田 定秋

摂南大・薬・薬物治療

A-14 コリンエステラーゼ阻害薬であるドネベジルの視覚コントラスト感受性に対する作用

○三澤 幸樹¹⁾、恩田 将成¹⁾、伊藤 慶¹⁾、竹内 遼介¹⁾、原 大樹¹⁾、森本 菜央^{1,2)}、小坂田 文隆^{1,2,3)}

1)名古屋大・院創薬科学・細胞薬効解析、2)名古屋大学高等研究院 神経情報処理研究チーム、
3)(独)科学技術振興機構 さきがけ

A-15 ヒト iPS 細胞から網膜色素上皮細胞への新規分化誘導法の確立

○伊藤 ありさ¹⁾、葉 珂¹⁾、荒川 大二郎¹⁾、森本 菜央^{1,2)}、小坂田 文隆^{1,2,3)}

1)名古屋大・院創薬科学・細胞薬効解析、2)名古屋大学高等研究院 神経情報処理研究チーム、
3)科学技術振興機構 さきがけ

A-16 加齢に伴う視機能変化に及ぼすミトコンドリア関連因子 Drp1 の関与と Drp1 阻害薬の保護作用

○矢古宇 智弘、中村 真帆、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰

岐阜薬科大・薬・薬効解析

A-17 ヒト網膜色素上皮細胞に対するヘモグロビン及びヘミンの影響

○村松 碧海¹⁾、中村 信介¹⁾、高橋 慶¹⁾、平山 祐²⁾、永澤 秀子²⁾、嶋澤 雅光¹⁾、
原 英彰¹⁾

1) 岐阜薬科大・薬・薬効解析、2) 岐阜薬科大・薬・薬化学

A-18 萎縮型加齢黄斑変性における Gpr35 の関与と治療標的としての可能性

○森口 真結、中村 信介、井上 雄有輝、嶋澤 雅光、原 英彰

岐阜薬科大・薬・薬効解析

中枢神経2 16:04～17:04

座長：前田 定秋 (摂南大学 薬学部 薬物治療)

小澤 光一郎 (広島大学 大学院医歯薬保健学研究所 治療薬効)

A-19 抗鬱薬ミルタザピンの神経 - グリア連関を介したドパミン神経保護効果

○菊岡 亮¹⁾、宮崎 育子^{1,2)}、久保田 菜月²⁾、前田 恵実²⁾、香川 大樹²⁾、守山 雅晃¹⁾、
糸 明日香¹⁾、村上 真樹¹⁾、北村 佳久³⁾、浅沼 幹人^{1,2)}

1) 岡山大・院医歯薬総合・脳神経機構、2) 岡山大・院医歯薬学総合・神経情報、
3) 岡山大・院医歯薬総合・臨床薬剤

A-20 頭部外傷マウスの Blood-brain barrier 破綻に対するエンドセリン ET_B 受容体拮抗薬 BQ788 による血管修復因子 Angiopoietin-1 の発現増加を介した抑制効果

○道永 昌太郎¹⁾、中谷 隆聖¹⁾、福留 千裕¹⁾、井上 杏奈¹⁾、岩根 綾¹⁾、田邊 彩美¹⁾、
山本 隼人¹⁾、水口 博之¹⁾、小山 豊²⁾

1) 大阪大谷大・薬・薬理、2) 神戸薬科大・薬・薬理

A-21 虚血耐性形成と虚血再灌流障害におけるタンパク質 SUMO 化修飾の役割

○渡邊 正知、門田 麻由子、入江 なる実、實井 佑華、田中 優太、田村 豊
福山大・薬・薬理

A-22 Phf24 欠損ラットにおけるけいれん発現感受性の評価

○大野 行弘¹⁾、加藤 将貴¹⁾、國澤 直史¹⁾、清水 佐紀¹⁾、川路 翔平¹⁾、河北 和馬¹⁾、
Iha Higor¹⁾、芹川 忠夫^{1,2)}

1) 大阪薬科大・薬・薬品作用解析、2) 京都疾患モデル研究所

A-23 認知症 (アルツハイマー型) の予防薬あるいは治療薬の探索

○武政 薫¹⁾、春見 芳輝¹⁾、石川 直久²⁾、正村 章昌¹⁾、林 博道¹⁾

1) アダプトゲン製薬(株) 研究開発部、2) 愛知医科大学

座長：高橋 英夫 (近畿大学 医学部 薬理)

喜多 紗斗美 (徳島文理大学 薬学部 薬理)

B-01 オミクス解析による肺高血圧症の新規治療標的探索

○西村 有平¹⁾、澤田 博文²⁾、三谷 義英⁴⁾、大下 裕法⁵⁾、平山 雅浩³⁾、丸山 一男²⁾

1)三重大・院医・薬理ゲノミクス、2)三重大・院医・麻酔集中治療、3)三重大・院医・小児科、
4)三重大学医学部附属病院 周産母子センター、5)名古屋市立大・院医・新生児・小児医学

B-02 Advanced glycation end products による血管新生促進機序の解明

○山崎 由衣¹⁾、西中 崇¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、森 秀治²⁾、和氣 秀徳³⁾、西堀 正洋³⁾、
高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医・薬理、2)就実大・薬、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

B-03 マクロファージによる終末糖化産物の取り込みに対する硫酸化多糖類の影響

○西中 崇¹⁾、山崎 由衣¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、森 秀治²⁾、和氣 秀徳³⁾、西堀 正洋³⁾、
高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医・薬理、2)就実大・薬、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

B-04 マウス腹腔マクロファージにおけるサイトカイン産生に及ぼすポリリン酸の影響

○原田 佳奈^{1,2)}、安部 奈央²⁾、中嶋 康陽²⁾、楠本 萌²⁾、中富 一彰²⁾、平山 実穂²⁾、
岡本 桃子²⁾、木村 美月²⁾、秀 和泉¹⁾、田中 茂¹⁾、酒井 規雄¹⁾、石原 熊寿²⁾

1)広島大・院医歯薬保健・神経薬理、2)広島国際大・薬・神経薬理

B-05 ミトコンドリア Ca²⁺ 輸送体の心血管病発症機序への関与

○喜多 紗斗美^{1,2)}、田頭 秀章²⁾、岩本 隆宏²⁾

1)徳島文理大・薬・薬理、2)福岡大・医・薬理

学生優秀発表賞2 YIA 10:40~11:52

座長：岸岡 史郎 (和歌山県立医科大学 医学部 薬理)

小山 豊 (神戸薬科大学 薬学部 薬理)

B-06 脳卒中後疼痛に対する orexin-A を介した下行性疼痛制御系の関与

○松浦 渉、中本 賀寿夫、徳山 尚吾

神戸学院大・薬・臨床薬学

B-07 内側前頭前野でのてんかん発作様活動誘導におけるノルアドレナリンの役割

○笹瀬 人暉、和田 進太郎、堂本 将輝、伊藤 志穂、出山 諭司、檜井 栄一、金田 勝幸

金沢大・医薬保健域・薬・薬理

B-08 マウスにおいて覚醒剤メタンフェタミンにより誘起される行動量増加と
脳内 cFos 発現に及ぼす T 型カルシウムチャンネル阻害薬の効果

○小池 寧々¹⁾、安井 洋樹¹⁾、関口 富美子¹⁾、田邊 元三²⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2)近畿大・薬・有機薬化学

B-09 成熟マウスにおける Reelin の前頭前皮質内投与が MK801 誘発性行動障害に与える影響

○浅野 裕樹¹⁾、澤幡 雅仁¹⁾、北川 佳奈子¹⁾、常浦 祐未¹⁾、永井 拓¹⁾、河野 孝夫²⁾、鍋島 俊隆^{3,4)}、服部 光治²⁾、山田 清文¹⁾

1)名古屋大・院医・医療薬学・病院薬剤部、2)名古屋市立大・院薬・病態生化学、3)藤田保健衛生大・医療科学・先進診断システム探索、4)藍野大学

B-10 周産期や幼若期の環境的要因曝露により惹起される精神行動異常における prostaglandin E₂ の関与

○高須 光平¹⁾、肥田 裕丈^{1,2)}、武藤 利奈¹⁾、山田 清文²⁾、尾崎 紀夫³⁾、吉見 陽^{1,3)}、野田 幸裕^{1,2,3)}

1)名城大・薬・病態解析学 I、2)名古屋大・病院・薬学部、3)名古屋大・院医・精神科・親と子どもの心療科

B-11 恐怖記憶学習における CGRP と Npas4 の関係性に関する研究

○三島 脩太、大塚 青海、松内 省太、福持 花奈、西村 航輝、橋川 直也、橋川 成美
岡山理科大・理・臨床生命

学生優秀発表賞 5 YIA 14:30~15:54

座長：萩田 喜代一（摂南大学 薬学部 薬理）

金井 好克（大阪大学 大学院医学系研究科 生体システム薬理）

B-12 炎症惹起因子 HMGB1 の糖代謝制御に対する生理的役割の検討

○兼森 玄¹⁾、勅使川原 匡¹⁾、劉 克約¹⁾、和氣 秀徳¹⁾、王 登莉¹⁾、高橋 英夫²⁾、森 秀治³⁾、西堀 正洋¹⁾

1)岡山大・院医歯薬総合・薬理、2)近畿大・医・薬理、3)就実大・薬・薬理

B-13 トロンボモジュリン/トロンビン系は HMGB1 を不活性化することでオキサリプラチン誘発性末梢神経障害の発症を抑制的に制御している

○林 佑亮¹⁾、坪田 真帆¹⁾、福田 亮太郎¹⁾、宮崎 貴也¹⁾、西堀 正洋²⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2)岡山大・院医歯薬総合・薬理

B-14 マウスにおいてオキサリプラチン誘発性末梢神経障害は肝障害によって増悪する

○堂本 莉紗¹⁾、西村 莉香¹⁾、関口 富美子¹⁾、坪田 真帆¹⁾、宮本 朋佳²⁾、小泉 祐一²⁾、西堀 正洋³⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2) (医)生長会 府中病院、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

B-15 シンバスタチンによるオキサリプラチン誘発冷アロディニア改善作用には iNOS および STAT3 が関与する

○岩城 杏奈、糸 和彦、大澤 匡弘

名古屋市立大・院薬・神経薬理

B-16 オキサリプラチン誘発末梢神経障害の予防薬探索を目的とした
ドラッグリポジショニング研究
—医療ビッグデータ・遺伝子発現データベースを活用した検討—

○新村 貴博¹⁾、座間味 義人^{1,2)}、川尻 雄大³⁾、牛尾 聡一郎⁴⁾、内田 真美⁵⁾、合田 光寛²⁾、
岡田 直人²⁾、萱野 純史²⁾、小山 敏広⁶⁾、今西 正樹²⁾、武智 研志⁷⁾、中馬 真幸⁷⁾、
堀ノ内 裕也⁸⁾、石澤 有紀⁸⁾、池田 康将⁸⁾、高取 真吾⁵⁾、川崎 博己⁵⁾、小林 大介³⁾、
島添 隆雄³⁾、北村 佳久⁴⁾、千堂 年昭⁴⁾、石澤 啓介^{1,2)}

1) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理、2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 九州大・院薬・臨床育薬、
4) 岡山大学病院 薬剤部、5) 松山大・院医歯薬・臨床薬学、6) 岡山大・院医歯薬学総合・臨床薬学、
7) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、8) 徳島大・院医歯薬・薬理

B-17 Caffeine による AMPK 活性調節メカニズムの検討

○大西 伶奈、宮本 理人、友川 剛己、竹之熊 和也、土屋 浩一郎

徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

B-18 Febuxostat による血管線維化抑制機構の検討

○近藤 正輝^{1,2)}、今西 正樹²⁾、生藤 来希¹⁾、村井 陽一¹⁾、福島 圭穰³⁾、堀ノ内 裕也⁴⁾、
石澤 有紀⁴⁾、合田 光寛²⁾、座間味 義人^{1,2)}、武智 研志⁵⁾、中馬 正幸⁵⁾、池田 康将⁴⁾、
藤野 裕道³⁾、土屋 浩一郎⁶⁾、石澤 啓介^{1,2)}

1) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理、2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 徳島大・院医歯薬・生命薬理、
4) 徳島大・院医歯薬・薬理、5) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、
6) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

末梢神経・骨格筋・骨・個体 16:04～16:52

座長：川畑 篤史(近畿大学 薬学部 病態薬理)
大澤 匡弘(名古屋市立大学 大学院薬学研究科 神経薬理)

B-19 ミトコンドリア局在蛋白 p13 遺伝子欠損マウスの表現型変化

○小椋 紗恵¹⁾、井上 直紀¹⁾、新谷 紀人¹⁾、笠井 淳司¹⁾、師田 洋平¹⁾、植野 寛貴¹⁾、
橋本 均^{1,2,3,4)}

1) 大阪大・院薬・神経薬理、2) 大阪大・院医・子どものこころの分子統御機構研究センター、
3) 大阪大学データビリティフロンティア機構、
4) 大阪大学先導的学際研究機構超次元ライフイメージング研究部門

B-20 オキサリプラチン誘発末梢神経障害のリスク因子：肝機能障害との関係について

○宮本 朋佳^{1,2)}、福山 紘基²⁾、畑中 重克³⁾、富士谷 昌典²⁾、堂本 莉沙¹⁾、
関口 富美子¹⁾、小泉 祐一²⁾、川畑 篤史¹⁾

1) 近畿大・薬・病態薬理、2) 生長会府中病院、3) 社会医療法人生長会 府中病院 臨床検査室

B-21 がん悪液質モデルに見られる骨格筋萎縮に対する人参養栄湯の効果

○大澤 匡弘、丸岡 純也、稲波 千尋、岩城 杏奈、石倉 啓一郎、村上 友康

名古屋市立大・院薬・神経薬理

B-22 マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した
Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャンネル K_{Ca}3.1 の発現抑制機構

○鬼頭 宏彰¹⁾、森広 晴香²⁾、大矢 進¹⁾

1) 名古屋市立大・院医・薬理、2) 京都薬科大・薬・薬理

座長：西堀 正洋(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 薬理)
西山 成(香川大学 医学部 薬理)

C-01 リポソーム化セラミドの抗腫瘍活性：プログラム化ネクロシスの誘導

○北谷 和之¹⁾、張 雪薇²⁾、松田 将也¹⁾、Kester Mark³⁾、八重樫 伸生²⁾、奈邊 健¹⁾
1) 摂南大・薬・生化学、2) 東北大・院医、3) バージニア大・薬理

C-02 高ヒスチジン糖タンパク遺伝子欠損マウスにおける妊娠高血圧症候群様表現型の解析

○勅使川原 匡¹⁾、劉 克約¹⁾、兼森 玄¹⁾、和氣 秀徳¹⁾、王 登莉¹⁾、高橋 英夫²⁾、
森 秀治³⁾、西堀 正洋¹⁾
1) 岡山大・院医歯薬総合・薬理、2) 近畿大・医・薬理、3) 就実大・薬・応用薬学・生体情報

C-03 慢性腎不全関連サルコペニアにおける鉄の関与

○堀ノ内 裕也¹⁾、池田 康将¹⁾、濱野 裕章²⁾、今西 正樹²⁾、福島 圭穰³⁾、武智 研志⁴⁾、
宮本 理人⁵⁾、石澤 有紀⁶⁾、座間味 義人^{2,7)}、藤野 裕道³⁾、石澤 啓介^{2,7)}、
土屋 浩一郎⁵⁾、玉置 俊晃⁸⁾
1) 徳島大・院医歯薬・薬理、2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 徳島大・院医歯薬・生命薬理、
4) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、5) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、
6) 徳島大学 AWA サポートセンター、7) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理、8) 阿南共栄病院・阿南中央病院

C-04 テトラヒドロbiopterin欠損マウスは、重篤な持続勃起症を発症する

○一瀬(鷺見) 千穂、菅沼 由唯、狩野 泰輝、井平 典子、池本 和久、近藤 一直
藤田医科大・医・薬理

C-05 Anemia disrupts long-term renal compensatory response

○中野 大介、Guan Yu、西山 成
香川大・医・薬理

座長：大野 行弘(大阪薬科大学 薬学部 薬品作用解析)
田熊 一徹(大阪大学 大学院歯学研究科 薬理)

C-06 細胞内カリウムレベル低下に伴う神経細胞脆弱性低下の可能性

○東 紘史、新宅 美紀、金城 俊彦、倉本 展行
摂南大・薬・機能形態

C-07 膵臓β細胞由来エクソソームの神経細胞死抑制効果の検討

○中島 美衣子、細井 徹、與田 優香理、小澤 光一郎
広島大・院医歯薬保健・治療薬効

C-08 ロテノン誘発神経毒性に対するカフェイン酸、クロロゲン酸の神経保護効果

○磯岡 奈未、和田 晃一、古川 智英子、宮崎 育子、浅沼 幹人
岡山大・院医歯薬総合・脳神経機構

C-09 ミクログリアにおける Nrf2-ARE 経路活性化物質 TPNA10168 の抗炎症作用

○有福 萌波¹⁾、泉 安彦²⁾、猪瀬 由莉¹⁾、堀内 奈緒子²⁾、立本 愛²⁾、小山 豊²⁾、金子 周司³⁾、久米 利明⁴⁾

1) 京都大・院薬・薬品作用解析、2) 神戸薬科大・薬・薬理、3) 京都大・院薬・生体機能解析、
4) 富山大・院医薬・応用薬理

C-10 アルツハイマー病特異的小胞輸送障害機構の解明

○金城 那香¹⁾、櫻井 隆²⁾、上原 孝¹⁾、高杉 展正^{1,2)}

1) 岡山大・院医歯薬学総合・薬効解析、2) 順天堂大・医・細胞分子薬理

C-11 脊髄後角におけるアルコールの感覚伝達への影響について

○山田 彬博^{1,2,3)}、古賀 浩平²⁾、糸 和彦¹⁾、古江 秀昌^{2,3)}、大澤 匡弘¹⁾

1) 名古屋市立大・院薬・神経薬理、2) 兵庫医科大・医、3) 自然科学研究機構 生理学研究所

学生優秀発表賞6 YIA 14:30～15:54

座長：矢部 千尋(京都府立医科大学 大学院医学研究科 病態分子薬理)

富田 修平(大阪市立大学 大学院医学研究科 分子病態薬理)

C-12 気管支平滑筋における BK_{Ca} チャネル修飾サブユニットγ1の生理機能と病態形成への関与

○野田 さゆり、鈴木 良明、山村 寿男、今泉 祐治

名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析

C-13 亜硝酸塩による脂肪組織への抗肥満的な影響

○井上 陽加¹⁾、宮本 理人¹⁾、服部 真奈¹⁾、池田 康将²⁾、玉置 俊晃²⁾、土屋 浩一郎¹⁾

1) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、2) 徳島大・院医歯薬・薬理

C-14 青黛含有成分による細胞増殖活性の検討

○桂 明里¹⁾、宮本 理人¹⁾、津田 勝範¹⁾、森崎 実友¹⁾、石澤 有紀²⁾、土屋 浩一郎¹⁾

1) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、2) 徳島大・AWA サポートセンター

C-15 ナローバンド UVB によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現の抑制

○真田 奈苗¹⁾、水口 博之²⁾、神村 盛一郎³⁾、藤井 達也³⁾、北村 嘉章³⁾、福井 裕行⁴⁾、武田 憲昭³⁾

1) 徳島大・院医歯薬・分子情報薬理、2) 大阪大谷大・薬・薬理、3) 徳島大・院医歯薬・耳鼻咽喉科、
4) 徳島大・院医歯薬・分子難治性疾患【寄附講座】

C-16 阿波晩茶由来 NFAT シグナル抑制化合物の同定とその標的分子の探索

○西田 浩平¹⁾、水口 博之²⁾、中野 友寛¹⁾、北村 紀子³⁾、内田 勝幸^{3,4)}、神沼 修⁵⁾、藤野 裕道¹⁾、福井 裕行⁶⁾

1) 徳島大・院医歯薬・分子情報薬理、2) 大阪大谷大・薬・薬理、3) (公財) 東京都医学総合研究所、
4) 株式会社 明治研究本部食機能科学研究所、5) 山梨大・総合分析実験セ、
6) 徳島大・院医歯薬・分子難治性疾患【寄附講座】

C-17 Structural requirement of aromatic amino acid derivatives specifically delivered to cancer cells with avoiding renal accumulation

○金 春灸¹⁾、魏 玲¹⁾、大垣 隆一¹⁾、富永 英之²⁾、奥田 桀¹⁾、永森 收志^{1,3)}、
金井 好克¹⁾

1)大阪大・院医・生体システム薬理、

2)福島県立医科大 ふくしま国際医療科学センター 先端臨床研究センター、

3)奈良県立医科大・生体分子不均衡制御学

C-18 Hsp90 シャペロンは MAPK シグナル経路構成因子の正常な細胞内局在に關与する

○池畑 拓実、大谷 夏実、高崎 輝恒、佐藤 亮介、杉浦 麗子

近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬

免疫・細胞 16:04～16:52

座長：大矢 進（名古屋市立大学 大学院医学研究科 薬理）

森 秀治（就実大学 薬学部 医療薬学部門・生体情報学）

C-19 タクロリムスによる痒み抑制メカニズム

○藤井 正徳、今堀 翔太、田中 智之

京都薬科大・薬・薬理

C-20 AGEs がラクトフェリンの作用に与える影響の解析

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

1)就実大・薬・応用薬学・生体情報、2)岡山大・院医歯薬総合・薬理、3)近畿大・医・薬理

C-21 リゾホスファチジン酸 (LPA) によるヒト表皮細胞の分化誘導および皮膚バリア機能の促進

○田邊 滉平、タムケオ ディーン、成宮 周

京都大・院医・創薬医学

C-22 G 蛋白質制御内向き整流性 K⁺ (Kir) チャネルにおける新奇作用薬結合部位の同定

○稲野辺 厚、倉智 嘉久

大阪大・院医・分子・細胞薬理

Ca_v3.2 T型カルシウムチャネル —どこで何をしているのか？—

川畑 篤史

近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室

電位依存性カルシウムチャネルのうち、静止膜電位に近い -60mV 付近から活性化され、チャネル開口時間が極めて短いT型〔低電位活性化型(LVA)〕カルシウムチャネル(Ca_v3チャネル)は、L型、N型、P/Q型、R型などの高電位活性化型(HVA)カルシウムチャネルとは電気生理学的性質、サブユニット構成などが大きく異なっている。多くの細胞において、静止膜電位付近ではCa_v3チャネルの一部は不活性化状態にあるが、一旦膜電位が過分極側に振れると瞬時に回復し、刺激に反応して活性化する。このような電気生理学的性質を有するため、Ca_v3は、活動電位に伴う神経伝達物質遊離に関与するHVAチャネルとは異なり、神経細胞の興奮性調節と神経伝達物質の自発性遊離に重要な役割を果たしている。また、Ca_v3の活性化曲線と不活性化曲線が静止膜電位付近で交差することで生じるwindow currentは、非興奮性細胞における持続的なCa²⁺流入を起こす。現在、臨床において使用されている医薬品の中でCa_v3チャネル阻害作用を有するものには、てんかん発作治療薬のエトスクシミドやバルプロ酸、定型抗精神病薬のピモジド、高血圧治療薬のエホニジピン、不整脈治療薬のペプリジルなどがあるが、十分な効力と選択性を有するものは未だ臨床応用されていない。Ca_v3チャネルにはCa_v3.1, Ca_v3.2, Ca_v3.3の3つのサブタイプが知られているが、HVAカルシウムチャネルとは異なり、 $\alpha 1$ サブユニット単独で機能しているため、 $\alpha 2\delta$ サブユニットに作用するプレガバリンなどの影響を受けにくい。現在、最も精力的に研究が進められているCa_v3.2チャネルが関与するチャネロパシーとしては、小児期の欠神発作などのてんかん発作が知られている。実験動物を用いた研究では、Ca_v3.2は痛覚、痒み、不安抑制、記憶、精神刺激薬(覚醒剤)の効果などとの関係が示唆されているほか、副腎皮質球状層からのアルドステロン分泌、心機能調節、がん細胞増殖などにも関与する可能性が指摘されている。Ca_v3.2のチャネル活性は、生理的濃度の細胞外Zn²⁺によってある程度抑制された状態にあるため、細胞外亜鉛濃度が低下するとチャネル活性が亢進する。また、Ca_v3.2の活性は細胞外のシステイン、硫化水素、プロスタグランジンE₂、高濃度グルコースなどによって亢進する一方、アナンダミドなどの脂質メディエーターによってチャネル機能は直接阻害される。興味あることに、大麻成分であるカンナビノイド(CB)類の多くがCa_v3阻害活性を有しており、CB受容体活性化との相乗効果によって痛みを抑制すると考えられる。本セミナーでは、Ca_v3.2の電気生理学的特徴、機能および発現を調節する分子、神経および非神経細胞における生理的役割と病態への関与、さらに新規Ca_v3チャネル阻害薬とその臨床効果などについて、我々が得た知見を交えて概説する。

A 会場

D301

マイクログリア可視化マウスの三次元蛍光イメージング

○内田 仁司¹⁾、阿部 学²⁾、田井中 一貴³⁾、三國 貴康¹⁾、崎村 建司²⁾

1)新潟大・脳研・細胞病態、2)新潟大・脳研・モデル動物開発、3)新潟大・脳研・システム脳病態

脳・脊髄における免疫担当細胞であるマイクログリアは、神経炎症過程に深く関わり、様々な精神・神経疾患に寄与することが知られている。例えば、末梢神経損傷などに起因する慢性疼痛（神経障害性疼痛）では、脊髄後角のマイクログリアが活性化し、中枢性感作を通じて、慢性かつ過剰な疼痛症状に関与することが明らかになっている。さらに最近では、神経障害性疼痛における脳内マイクログリアの関与についても解明されつつある。以上のことから、脳・脊髄組織中のマイクログリア細胞を網羅的に可視化する手法、並びにその細胞機能を制御する手法の確立は重要な研究課題であると考えられる。そこで今回我々は、崎村研究室にて独自に開発したマイクログリア可視化マウス（Iba1 (iCre/+); CAG-floxed STOP tdTomato; Nakayama et al., Nat Commun, 2018)を用いて、組織透明化手法を用いた三次元蛍光イメージングと組み合わせることにより、脊髄および脳内マイクログリアの網羅的な可視化手法の確立を目指した。今回の発表では、これらの結果を紹介したい。

マウス反復社会挫折ストレスにより誘導されるマイクログリアのエピゲノム解析

○谷口 将之¹⁾、北岡 志保¹⁾、門田 満隆²⁾、工樂 樹洋²⁾、古屋敷 智之¹⁾

1)神戸大・院医・薬理、2)理研・生命機能科学研究センター 分子配列比較解析ユニット

社会挫折や孤独から受けるストレスは、抑うつや不安亢進など情動変容を惹き起し、精神疾患に深く関わる。我々はマウスの社会挫折ストレスを用いて、反復ストレスは、内側前頭前皮質 (medial prefrontal cortex; mPFC) におけるマイクログリアの活性化により樹状突起の萎縮が誘導され、抑うつ行動が誘導されることを示した。我々の最近の知見では、マイクログリアの活性化はストレスの反復によりマイクログリアの活性化がより速く、より強く応答する特徴的な時間的活性化パターンを示すことを見出した。マイクログリアの類縁細胞であるマクロファージの報告から、この変化にはエピゲノム変化の関与が強く示唆されるが、その分子実態は不明である。

従来の ChIP-seq 法において、脳組織はサンプルの前処理である細胞の分離・分散が難しいこと、大量のサンプルを要することから、細胞種特異的なエピゲノム解析はほとんど進んでいない。したがって、我々は、マイクログリアが蛍光標識された CX3CR1-EGFP マウスとセルソーターを用いてマイクログリア単離し、ChIP-seq 法を可能とする解析系を確立した。この解析手法により同定された活性型ヒストン修飾領域の多くは、マイクログリア特異的に発現する

遺伝子の近傍に認められた。一方、皮質の全細胞集団から得られたデータでは、皮質におけるマイクログリアの存在比が極めて少ないことから、これらのエピゲノム修飾領域は検出されなかった。さらに、各データで活性型ヒストン修飾領域近傍の遺伝子を Gene ontology enrichment 解析に供し細胞機能ネットワークを作成したところ、マイクログリアのデータにおいて免疫反応や免疫細胞の分化に関わる GO term の集合が存在することを見出した。現在は、本解析手法を用いて、反復ストレスによる mPFC におけるマイクログリアのエピゲノム解析に取り組んでおり、最近の知見を報告する。

○永井 裕崇

神戸大・院医・薬理

神経細胞間情報伝達の座となるシナプスを形成する樹状突起スパインは、学習や睡眠、ストレスを含む様々な環境因子により可塑的にそのサイズや形、構成要素を変化させ、記憶、発達など生理機能だけでなく、精神疾患や神経変性疾患など様々な病態に重要な役割を担う。スパインは直径1ミクロン以下と小さく、詳細な形態学的解析には電子顕微鏡が有用である。

本研究では、連続する超高解像度画像の取得により、あらゆる細胞と細胞内小器官の三次元的組織再構築を可能とするシリアルブロックフェイス走査電子顕微鏡(SBF-SEM)を用い、発達期マウス(13日齢)における睡眠の生理的役割と断眠の影響を組織学的に解析した。運動野、前頭前皮質において樹状突起と樹状突起スパインを三次元再構築し、シナプス強度指標となるスパイン頭部体積やスパイン-軸索接触面積を定量評価することにより、樹状突起におけるシナプス強度分布を測定した。その結果、短期断眠がシナプス強度を増大させる一方で、長期断眠がシナプス強度を低下させることが分かった。この二相性のシナプス強度変化は、断眠による脳組織恒常性破綻の新たな機序を示唆する。このように、三次元電顕を用いた定量的な形

態学は、樹状突起スパインの可塑性研究において強力な解析基盤となる。現在は社会挫折ストレスを用いて情動変容の基盤となるマウス脳組織変化の解析を行っており、その取り組みも紹介したい。

○木口 倫一¹⁾、Ding Huiping²⁾、岸岡 史郎¹⁾、Zaveri Nurulain³⁾、Ko Mei-Chuan²⁾

1)和歌山県医大・医・薬理、2)ウェイクフォレスト大・医・生理薬理、3)アストレア・セラピューティクス

昨今のオピオイド鎮痛薬の乱用や過量投与による問題から、依存性のない強力な鎮痛薬の開発が国際的に必要とされている。モルヒネやオキシコドンなどの μ オピオイドペプチド(MOP)受容体アゴニストは有効な鎮痛薬であるが、その有害作用のために臨床での使用が制限される場合も多い。これまでの研究から、ノシセプチン(NOP)受容体アゴニストは霊長類において強い鎮痛効果を有すると共に、MOP受容体アゴニストによる強化効果を抑制することが示されている。そこでNOP受容体およびMOP受容体の両者に作用する化合物(AT-121)を合成し、アカゲザルを用いてその薬理作用を評価した。尾を50℃の温浴に浸した際の逃避反応をもとに鎮痛効果を評価したところ、AT-121の全身投与はその用量依存的に鎮痛効果を示し、その効果はモルヒネの100倍程度であった。AT-121の鎮痛効果はNOP受容体またはMOP受容体それぞれのアンタゴニストを併用することにより抑制された。レミフェンタニルやオキシコドンとは異なり、AT-121は強化効果を示さなかった。腹部に留置したテレメトリー送信機により呼吸機能ならびに循環器系への影響を検討したところ、AT-121は最大鎮痛効果が得られる量の10倍を用いても

これらの生理的機能に影響を及ぼさなかった。さらにモルヒネとは異なり、AT-121を反復投与しても身体的依存の形成は認められなかった。今回の発見により、NOP受容体およびNOP受容体の両者に対して適切なアゴニスト活性を有する2機能性アゴニストが、安全かつ依存性のない新しい鎮痛薬となる可能性が示唆された。

○雑賀 史浩、木口 倫一、小林 大地、松崎 伸介、岸岡 史郎
和歌山県医大・医・薬理

神経障害性疼痛の病態生理にはマクロファージやミクログリアが重要な役割を果たすことが知られているが、病態に及ぼすそれらの影響を詳細に検討するためには細胞特異的な制御方法の確立が必要である。本研究ではマクロファージおよびミクログリア特異的に Gi-DREADD (designer receptor exclusively activated by designer drugs) を誘導可能なマウスを作成し、神経障害性疼痛に及ぼすマクロファージ/ミクログリアの影響を評価した。

CX3CR1 プロモーター制御下で Cre を発現する Tg マウスと Cre 依存的に変異型ヒトムスカリン受容体 (hM4Di) を発現するマウスの交配により作製した CX3CR1-hM4Di (Gi-DREADD マウス) を実験に用いた。神経障害性疼痛モデルマウスは坐骨神経部分結紮 (Partial sciatic nerve ligation: PSL) により作成し、von Frey テストに従って機械的アロディニアを評価した。

コントロールマウスと同様に、CX3CR1-hM4Di マウスに PSL を施した7日後にはアロディニアが認められた。CX3CR1-hM4Di マウスの腹腔マクロファージならびに PSL 後の傷害坐骨神経に集積する F4/80 陽性マクロファージには hM4Di が局在することを確認した。CX3CR1-

hM4Di マウスの腹腔マクロファージにリポ多糖を処置すると炎症性サイトカイン・ケモカインの発現が増加したが、これらはいずれも特異的作動薬である Clozapine N-oxide (CNO) の処置による Gi シグナルの誘導によって抑制された。加えて、CX3CR1-hM4Di マウスにおける PSL 誘発アロディニアは CNO の全身投与により抑制された。

本研究結果により、Gi-DREADD を用いることでマクロファージ/ミクログリアを特異的に抑制できることが示された。またマクロファージ/ミクログリアの抑制は神経障害性疼痛の改善に有効である可能性が改めて示唆された。

脳内 n-3系脂肪酸の減少はストレス暴露後の痛みを増悪させる

○相澤 風花¹⁾、山下 琢矢²⁾、中本 賀寿夫¹⁾、糟谷 史代²⁾、徳山 尚吾¹⁾

1) 神戸学院大・薬・臨床薬学、2) 神戸学院大・薬・毒性

【目的】 これまでに我々は、慢性的にストレスを暴露されたマウスでは痛みが持続すること、さらに、脳内では docosahexaenoic acid (DHA) 結合型のリン脂質が減少していることを見出している。これらの結果は、ストレス暴露によって生じる脳内の n-3系脂肪酸の減少が、痛みの増悪あるいは慢性化に関与する可能性を示唆している。本研究では、食餌誘導性 n-3系脂肪酸欠乏マウスを作製し、ストレス暴露後に生じる痛覚閾値の変化について検討した。さらに、DHA 反復投与の影響について検討を加えた。

【方法】 C57BL/6J 系統の雌性および雄性マウスに control 食、または、n-3系脂肪酸欠乏食を自由摂食させ、交配によって得られた雄性マウスを用いた。脳内の DHA 含量は、LC-ESI-MS/MS を用いて測定した。9週齢の control 食および、n-3系脂肪酸欠乏食マウスに、反復10日間の社会的敗北ストレス (SDS) を暴露した。SDS 後、右後肢足底部へ術後痛を惹起させた。機械的痛覚閾値は von Frey 試験を用いて評価した。DHA は、10日間の SDS 暴露期間中 25mmol/kg/mouse を1日1回経口投与した。

【結果】 N-3系脂肪酸欠乏食群は control 食群と比較して、脳内の DHA 含量が減少し、baseline において、両側性に

機械的痛覚閾値の低下が認められた。SDS 暴露条件下、術後痛惹起同側における機械的痛覚閾値は、術後1日目から21日目まで control 食群および n-3系脂肪酸欠乏食群ともに同程度であったが、control 食群の機械的痛覚閾値は術後28日目に消失したのに対し、n-3系脂肪酸欠乏食群は、術後49日目においても、機械的痛覚閾値は低下したままであった。SDS 暴露条件下、n-3系脂肪酸欠乏食マウスに対する DHA の反復経口投与は、術後7日目の機械的痛覚閾値の低下を改善した。

【結論】 N-3系脂肪酸の減少は、機械的痛覚閾値の低下を引き起こすこと、また、ストレス暴露後の痛みを増悪させることが明らかとなった。

加齢による認知機能低下における TRPM2 の病態生理学的役割

○抱 将史、宮之原 遵、永安 一樹、白川 久志、金子 周司

京都大・院薬・生体機能解析

【序論】 加齢に伴う認知機能の低下には、過剰な脳内炎症の関与が示唆されているものの、その病態生理学的な位置付けについては不明な点が多い。Transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) は脳や免疫細胞に高発現する活性化感受性の Ca²⁺ 透過型カチオンチャネルであり、当研究室では最近、TRPM2 を介した中枢常在性ミクログリアの活性化が慢性脳低灌流により惹起される脳内炎症や認知機能障害に関与していることを、若齢マウスを用いた検討により明らかにした。しかしながら加齢に伴う認知機能の低下における TRPM2 の役割については明らかではないことから、本研究では24ヶ月齢まで飼育したマウスを用いることで、その役割を検討した。

【方法】 本研究では、野生型および TRPM2 欠損の C57BL/6J 雄性マウスを用いた。若齢マウスとして2-3ヶ月齢、高齢マウスとして12-16ヶ月齢、老齢マウスとして20-24ヶ月齢のマウスを用いた。認知機能の低下は Y-迷路試験、新奇物体探索試験、新奇場所探索試験により評価し、免疫染色、定量的 RT-PCR 法による組織学的検討を行った。

【結果・考察】 野生型マウスを用いた検討では、Y-迷路試験および新奇物体探索試験において、高齢マウスで認知機能の低下を認めた。新奇場所探索試験で評価される空間

認知機能は、高齢マウスでは変化は認められなかったが、老齢マウスでは低下していた。野生型マウスと対応する月齢の TRPM2 欠損マウスを用いた検討では、全ての行動試験において、野生型マウスで観察された認知機能の低下が TRPM2 欠損により抑制された。次に野生型老齢マウスで免疫組織化学的検討を行ったところ、脳梁でオリゴデンドロサイトと想定される GSTpi 陽性細胞数の減少傾向や、ミクログリア/マクロファージと想定される Iba1 陽性細胞数の増加が認められたが、TRPM2 欠損老齢マウスでは観察されなかった。また、野生型老齢マウスの海馬での免疫組織化学的検討において、神経細胞と想定される NeuN 陽性細胞数が減少し、Iba1 陽性細胞数が増加したが、TRPM2 欠損老齢マウスではそのような変化は観察されなかった。脳梁および海馬で定量的 RT-PCR 法を用いて炎症性サイトカイン発現量の変化を解析したところ、野生型老齢マウスでは TNF α および CCL2 の mRNA 発現が増大していたが、TRPM2 欠損老齢マウスでは変化は認められなかった。以上の結果より、加齢に伴う認知機能の低下に TRPM2 が関与し、そのメカニズムとして TRPM2 を介したミクログリア/マクロファージの活性化が関与していることが示唆された。

アストロサイトにおけるCx43発現低下はモノアミンによる神経栄養因子産生を増強させる

○近藤 峻、原田 七瀬、瀧本 朋代、中村 庸輝、中島 一恵、仲田 義啓、森岡 徳光
 広島大・院医歯薬保健・薬効解析科学

【背景・目的】アストロサイトに発現する connexin43 (Cx43) は、隣接する細胞間で gap-junction を形成して細胞間情報伝達に関与していることが知られている。近年、うつ病モデルラットの前頭前皮質において Cx43 発現が低下していることが報告されている。一方で我々は、初代培養大脳皮質アストロサイトにおける Cx43 発現低下が noradrenaline (NA) による脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor : BDNF) 産生を増強させることを第133回本会において報告した。本研究では、Cx43 発現低下による神経栄養因子産生増強に関する詳細なメカニズムについて検討を行った。

【方法】Wistar 系ラット新生仔の大脳皮質より、定法に従って初代培養大脳皮質アストロサイトを作製した。培養大脳皮質アストロサイトにおける Cx43 は RNA 干渉法を用いてノックダウンさせた。protein 発現量は Western blotting 法を用いて測定した。

【結果・考察】培養大脳皮質アストロサイトにおいて、NA だけでなく 5-hydroxytryptamine による BDNF mRNA 発現増加作用も Cx43 ノックダウンにより増強されることが明らかとなった。我々はこれまでに、Cx43 ノックダウン

群における NA 誘導性 BDNF mRNA 増強反応は extracellular signal-regulated kinase (ERK) 阻害剤である U0126 処置によって消失することを見出している。そこで、Cx43 発現低下が ERK の活性化および BDNF 発現を制御する転写調節因子である cAMP response element binding protein (CREB) の活性化へ及ぼす影響について検討した。その結果、Cx43 ノックダウン群において NA 誘導性 ERK リン酸化および CREB リン酸化反応の亢進が見られた。また、Cx43 発現低下による NA 誘導性 CREB リン酸化反応の亢進は、U0126 処置によって消失した。以上の結果から、培養大脳皮質アストロサイトにおける Cx43 発現低下は、NA 誘導性の ERK-CREB 経路の活性化亢進を介して BDNF mRNA 発現を増強させることが明らかとなった。以上の結果は、うつ病態にて認められるアストロサイトでの Cx43 発現低下が神経栄養因子産生の制御に寄与している可能性、ならびに抗うつ薬およびモノアミンによる神経栄養因子産生に対するアストロサイトの重要性を示唆している。

トリメチルスズ誘発海馬損傷によるアストロサイトの増殖と抑うつ行動の発現

○佐藤 桂子^{1,2)}、長谷部 茂¹⁾、萩田 喜代一³⁾、中澤 敬信¹⁾、田熊 一徹^{1,4)}
 1)大阪大・院歯・薬理、2)大阪大・院歯・第二口腔外科、3)摂南大・薬・薬理、
 4)大阪大・院・大阪大・金沢大・浜松医大連合小児発達学研究所

【目的】有機スズ化合物であるトリメチルスズ (TMT) は、マウスの海馬歯状回顆粒細胞層において神経変性を誘発し、記憶障害などの行動異常を引き起こす。またその後、活発な神経新生により同部位が再生する可能性が示されている。一方、近年うつ病患者の脳解析から海馬の萎縮や機能障害を示す知見が数多く報告されている。そこで本研究では、TMT 誘発海馬損傷マウスを用いて、海馬歯状回の損傷-再生の観点より抑うつ様行動の発現を解析した。さらに、その過程で見いだした TMT 投与によるアストロサイトの増殖変化に着目し、アストロサイト活性化制御薬 (ONO-2506) が抑うつ様行動発現に対して及ぼす影響について検討を加えた。

【方法】実験には ICR 系雄性マウス (5 週齢、日本エスエルシー) を購入し、6 週齢時に TMT (2.5 mg/kg, i.p.) を投与した。対照群には生理食塩水を投与した。免疫組織学的解析は、TMT 投与 2 日~4 週間後にホルマリン固定した脳組織より作製した超薄切片において、成熟神経細胞、神経幹細胞およびアストロサイトをそれぞれ抗 NeuN, 抗 nestin および抗 GFAP 抗体を用いて可視化し、単位面積あたりの各細胞数を計数して評価した。強制水泳試験は、

TMT 投与 2~4 週間後に実施した。ONO-2506 は、TMT 投与の 30 分前に投与した (30 mg/kg, i.p.)。

【結果・考察】TMT は海馬歯状回において、投与 2~14 日後にかけて NeuN 陽性細胞数を減少させ、投与 2~3 日後に nestin 陽性細胞数の増加と投与 3~14 日後に GFAP 陽性細胞数の増加を引き起こした。また、TMT 投与群は、対照群に比べて投与 14 日後に強制水泳試験における無動時間の増大を示した。TMT 投与による組織化学的および抑うつ様行動発現の変化はいずれも、TMT 投与 28 日目には消失していた。さらに、ONO-2506 が、TMT 投与による GFAP 陽性細胞数の増加と抑うつ様行動発現を抑制することを認めた。以上の成績より、TMT による海馬歯状回損傷に伴う抑うつ様行動の発現において、アストロサイトの増殖の密接な関与が示唆された。

A-10

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)トランスジェニックマウスにおけるうつ様行動の変化

○大塚 青海、三島 脩太、松内 省太、橋川 直也、橋川 成美
岡山理科大・理・臨床生命

【目的】カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)はカルシトニン遺伝子からスプライシングの違いによって作られるアミノ酸37個からなる神経ペプチドで、強力な血管拡張作用がある。これまで我々は、うつ様症状を示すモデルマウスにおいて、CGRPの発現量が脳海馬において有意に減少していること、このモデルマウスにCGRPを脳室内に投与することによって、うつ様状態を抑制し、これは神経成長因子の海馬における発現量の減少が関与していることを報告してきた。CGRPのうつ様症状における役割を更に詳細に検討するために、CGRP過剰発現マウスを作製し、うつ様行動の影響を検討した。

【方法】CGRP過剰発現マウス(Tg)は、8週齢から9週齢の雄性マウスを使用した。対照群として同週齢のC57BL6Jマウスを用いた。行動試験は、オープンフィールド試験、強制水泳試験、尾懸垂試験、スクロース嗜好試験を行い、うつ様行動を評価した。

【結果・考察】うつ様行動を評価する試験では、強制水泳試験、尾懸垂試験においてCGRP Tgマウスで不動時間の延長が見られた。一方、スクロース嗜好試験ではむしろスクロースを好む傾向が見られた。さらにオープンフィールド

試験ではCGRP Tgマウスにおいて自発行動量の減少が見られた。これらの結果はCGRP Tgマウスの不動時間延長が、うつ様症状によるものではなく、自発行動量が影響を及ぼしている可能性が示唆された。

A-11

うつ病モデルマウスでのベンゾジアゼピン系睡眠薬の作用減弱における外側視床下部オレキシン神経の関与

○清水 佑美¹⁾、今井 哲司¹⁾、宮山 大¹⁾、辻 光貴¹⁾、浅岡 希美²⁾、中川 貴之¹⁾、金子 周司²⁾、松原 和夫¹⁾

1)京都大・病院・薬剤部、2)京都大・院薬・生体機能解析

【目的】うつ病に併発する不眠症の治療にベンゾジアゼピン(BZD)系睡眠薬が汎用されるが、うつ病患者ではその効果は低いことが経験的に知られている。我々はこれまでに、慢性社会的挫折ストレスによるうつ病モデルマウス(CSDSマウス)では、BZD系睡眠薬プロチゾラムの睡眠作用が減弱していることを報告してきた。本研究では、このメカニズムを解明するために、腹外側視索前野(睡眠中枢)のGABA神経の投射先であり、オレキシン神経を多く含む覚醒中枢の外側視床下部(LH)に着目して検討した。**【方法】**ICR系マウス(50-70g、♂)からの繰り返し攻撃を受けること(社会的挫折ストレス)でC57BL/6Jマウス(7週齢、♂)のCSDSモデルを作成した。同マウスのLHを摘出し、HPLCによりGABA含有量を測定した。また、プロチゾラム(0.3 μg/side)を両側LHに微量注入、もしくはスボレキサント(20.4 mg/kg)を腹腔内投与した30分後に、ペントバルビタール(40 mg/kg)を腹腔内投与し、ペントバルビタール誘発睡眠作用に対する薬物の延長効果を評価した。さらに、CSDSマウスからLHを含む脳切片をすばやく切り出し、whole-cell patch-clamp法によりオレキシン神経の自発発火頻度を測定した。

【結果および考察】CSDSマウスでは、LHにおけるGABA含有量が対照群と比較して有意に減少。また、両側LHにプロチゾラムを微量注入した際の睡眠作用(睡眠時間の延長)は、CSDSマウスで有意に減弱した。そこで、LH切片内のオレキシン神経の自発発火頻度を測定したところ、CSDSマウスでは対照群と比較して有意に増加していた。また、対照群ではプロチゾラム(10 μM)処置によりオレキシン神経の自発発火頻度が有意に抑制されたのに対し、CSDS群ではこの抑制効果が有意に減弱しており、プロチゾラムの効果が消失していた。これらの結果から、CSDSマウスでは、LH中のGABA含有量低下に起因したオレキシン神経の過剰興奮が誘導されており、このような状態下ではBZD系薬物の睡眠作用は低下すると考えられた。一方、オレキシン受容体拮抗薬であるスボレキサントの睡眠作用は、CSDSマウスでも変化は見られず、うつ病に併発する不眠症に対するオレキシン受容体拮抗薬の有用性が示唆された。

糖尿病性神経障害における冷過敏応答に血流障害による TRPA1 過敏化が関与する

○矢野 佑一¹⁾、緋山 遥¹⁾、宗 可奈子²⁾、今井 哲司³⁾、永安 一樹¹⁾、白川 久志¹⁾、中川 貴之³⁾、金子 周司¹⁾

1) 京都大・院薬・生体機能解析、2) 京都大・院薬・附属統合薬学教育開発センター、3) 京都大・病院・薬部部

【背景】糖尿病の合併症の一つである糖尿病性神経障害は、初期には四肢末端の痛みやしびれが表れ、神経障害が進行すると感覚鈍麻などが生じる。持続的な高血糖に伴うソルビトールの蓄積のほか、血流障害がその原因と考えられているが、詳細は不明である。我々は最近、低酸素負荷などによりプロリン水酸化酵素が抑制されると、transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) が過敏化し、しびれ様行動や冷刺激に対する過敏応答に寄与することを明らかにした。本研究では、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病モデルマウスを用い、糖尿病性神経障害における TRPA1 と血流障害との関連を検討した。

【方法】野生型 C57BL/6J マウスあるいは TRPA1 遺伝子欠損 (KO) マウス (雄性、6-8 週齢) に STZ (50 mg/kg) を 7 日間連続腹腔内投与し、糖尿病モデルマウスを作成した。

【結果および考察】STZ 誘発糖尿病モデルマウスでは、STZ 投与 2 週後をピークに後肢血流量が低下し、また同時に機械刺激 (von Frey フィラメント) および冷刺激 (5℃ の冷板) に対する過敏応答が認められた。冷過敏応答は、TRPA1 拮抗薬または TRPA1-KO により阻害された一方で、機械過敏応答に変化は見られなかった。この

とき、後根神経節での TRPA1 mRNA 発現量に差は認められなかったが、TRPA1 アゴニストであるアリルイソチオシアネート (AITC) の足底内投与によって惹起される疼痛様行動は増強され、TRPA1 が機能的に過敏化していると考えられた。そこで、TRPA1 過敏化と血流障害との関連を検討するため、血管拡張薬タグラフィル (10 mg/kg) を単回投与し、血流を改善させたところ、冷過敏応答および AITC 誘発疼痛様行動の増強がともに抑制された。同様に、外腸骨動脈の結紮による後肢虚血のモデルマウスにおいても、血流低下に応じて AITC 誘発疼痛様行動が増強された。これらの結果から、末梢血流量の低下に伴い TRPA1 が過敏化し、糖尿病性神経障害の初期段階で認められる冷過敏応答に寄与していると考えられる。一方、STZ 投与 8 週後に認められる電流知覚閾値の上昇、触覚鈍麻、および表皮内神経線維密度の低下は、TRPA1-KO マウスでも影響を受けず、糖尿病性神経障害の進行に TRPA1 は関与しないと考えられる。

糖尿病モデルマウスで生じる網膜神経節細胞死に対する apelin の保護作用

○柴垣 郁弥、石丸 侑希、鈴木 麻友、山室 晶子、吉岡 靖啓、前田 定秋

摂南大・薬・薬物治療

【目的】糖尿病網膜症では、網膜微小血管障害に加えて視神経を構成する網膜神経節細胞 (RGC) の脱落が病態初期から起こることが知られている。現在、RGC 死を抑制する治療法は確立されておらず、また、抗血管内皮増殖因子 (VEGF) 抗体の硝子体内投与による治療は RGC の脱落を促進することが報告されている。糖尿病網膜症の治療は、レーザー光凝固法や抗 VEGF 抗体の硝子体内投与などが行われているが、いずれも侵襲性が高く、患者の負担が大きいことが問題視されている。これまでに我々は、生理活性ペプチドである apelin の受容体である APJ が RGC に発現していること、また、N-methyl-D-aspartate により誘発される RGC の脱落を apelin の硝子体内投与が抑制することを明らかにした。本研究では、糖尿病モデルマウスに高脂肪食 (HFD) を摂取させることによって生じる RGC 死が、APJ アゴニストの末梢投与 (腹腔内投与) により抑制されるか、また、内因性 apelin の欠損により促進されるか否かについて検討を行った。

【方法】実験には、4~5 週齢において糖尿病を発症する Akita マウス、および apelin 遺伝子欠損マウスを用いた。Akita マウスに 5 週齢から 9 週齢まで HFD を自由摂取さ

せた。APJ アゴニストである ML233 (5 mg/kg) は、Akita マウスの 5 週齢から 9 週齢まで週 3 回、1 日おきに 1 回腹腔内投与した。網膜の光刺激応答は、網膜電図測定器を用いて評価した。網膜神経節細胞は、抗 Brn-3a 抗体を用いた免疫組織化学染色により検出した。

【結果および考察】HFD 摂取させた Akita マウスでは、摂取 3 週目より網膜の光刺激応答の低下がみられた。また、HFD を 4 週間摂取させた Akita マウスの網膜では、Brn-3a 陽性細胞数の有意な減少がみられた。この光刺激応答の低下および Brn-3a 陽性細胞数の減少は、ML233 を腹腔内投与したマウスではほとんどみられなかった。Apelin を欠損させた Akita マウスでは、HFD 摂取 2 週目より網膜の光刺激応答の低下がみられた。以上の結果より、腹腔内投与した ML233 および内因性 apelin が、HFD を摂取させた糖尿病モデルマウスで生じる RGC の脱落に対して保護作用を有することが示され、APJ アゴニストを末梢血管から投与することにより、糖尿病網膜症における RGC 死を抑制できる可能性が示唆された。

コリンエステラーゼ阻害薬であるドネペジルの視覚コントラスト感受性に対する作用

○三澤 幸樹¹⁾、恩田 将成¹⁾、伊藤 慶¹⁾、竹内 遼介¹⁾、原 大樹¹⁾、森本 菜央^{1,2)}、小坂田 文隆^{1,2,3)}

1)名古屋大・院創薬科学・細胞薬効解析、2)名古屋大学高等研究院 神経情報処理研究チーム、
3)(独) 科学技術振興機構 さきがけ

【背景・目的】 視覚情報は、網膜で受容され、脳の外側膝状体、一次視覚野(V1)、高次視覚野に順に伝達されることで知覚・認知される。この視覚情報処理過程は、他の領域から投射される神経調節因子(ニューロモジュレーター)により調節される。マイネルト基底核から視覚野に入力するAChもそれらニューロモジュレーターの1つである。近年、V1に入力するACh伝達を増強すると低コントラストの視覚刺激に対する弁別能が上昇すること、AChをV1に局所投与すると最適視覚刺激に対するV1細胞の応答性が変化することが報告された。そこで本研究では、アルツハイマー病治療薬として用いられるコリンエステラーゼ阻害薬のドネペジル(DPZ)が視覚機能への影響を個体レベルおよび細胞レベルで解析することを目的とした。

【方法・結果】 視覚コントラスト感受性に対するDPZの作用を個体レベルで調べるために、マウスを用いたY字水迷路による視覚弁別課題を構築した。左右のモニタのいずれか一方に白と黒の正弦波視覚刺激を、他方には平均化したグレー背景を呈示し、正弦波刺激のモニタの手前のみ逃避台を設置した。マウスは、正弦波刺激とグレー背景を弁別して、逃避台を目指して泳ぐように訓練した。正弦

波刺激のコントラストの低下に伴い、弁別の難易度は上昇する。雄性C57BL/6マウスにDPZ(2.5mg/kg)あるいはPBSを腹腔内投与し、各コントラストにおける正答率を算出した。その結果、DPZ投与したマウスにおいて低コントラスト刺激の弁別能が上昇した。次に、DPZがV1の神経細胞に与える影響を解析するために、Ca²⁺感受性緑色蛍光タンパク質であるGCaMP6mをアデノ随伴ウイルスベクターによりV1の神経細胞に発現させ、2光子顕微鏡によりCa²⁺イメージングを行った。視覚刺激として複数種類のコントラストの正弦波刺激をマウスに呈示し、DPZ(2.5mg/kg)投与前後における細胞の視覚応答の変化を解析した。その結果、V1においてDPZ投与により視覚刺激に対する応答性が増大する集団および減弱する集団を見出した。

【考察】 これらのDPZの視覚への作用は、V1へのAChの伝達増強やAChの局所投与が個体およびV1細胞に与える作用と一致する。以上より、DPZが視知覚・視覚認知を向上させる作用を有すると示唆される。

ヒトiPS細胞から網膜色素上皮細胞への新規分化誘導法の確立

○伊藤 ありさ¹⁾、葉 珂¹⁾、荒川 大二郎¹⁾、森本 菜央^{1,2)}、小坂田 文隆^{1,2,3)}

1)名古屋大・院創薬科学・細胞薬効解析、2)名古屋大学高等研究院 神経情報処理研究チーム、
3)科学技術振興機構 さきがけ

【背景・目的】 萎縮型加齢黄斑変性では網膜色素上皮細胞(RPE)が加齢により変性・脱落し、滲出型加齢黄斑変性では黄斑部の脈絡膜からの新生血管の伸展により網膜が障害される。萎縮型加齢黄斑変性には有効な治療法はなく、滲出型加齢黄斑変性に対しては新生血管を標的とした対症療法しか存在しないため、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)を用いたRPEの再生医療が注目されている。しかし現行のヒトiPS細胞からRPEへの分化誘導法では、作業が煩雑なうえに分化効率が低い。そこでヒトiPS細胞由来RPEを再生医療等製品として開発するために、より簡便に高効率かつ安定的に分化誘導する新規手法が求められている。

【方法・結果】 ヒトiPS細胞からRPEへの分化誘導には、二次元分散培養にて低分子化合物を添加することで胚発生を模倣した。細胞の分化は、各分化ステージに特異的なマーカーの発現を免疫細胞化学およびqPCRにより評価した。ヒトiPS細胞にdual SMAD inhibition処置を行ったところ、分化3、6日目に多能性幹細胞マーカーのNANOGやOCT3/4の発現量は顕著に低下し、神経外胚葉マーカーのSOX1および網膜原基マーカーのRXの発

現量が増加した。その後、分化6日目にBMPシグナルのアゴニストを添加したところ、RXの発現量はさらに増加した。さらに、RPE前駆細胞マーカーであるMITFやPAX6の発現量は分化9日目から増加し、分化18日目にRPE前駆細胞に特徴的なMITF+/PAX6+細胞が認められた。続いて、分化18日目からWntシグナルアゴニストおよびFGF受容体1阻害薬を添加した結果、分化22日目には茶褐色の色素を有する多角形状の細胞が観察された。さらに長期間培養したところ、ZO-1陽性のタイトジャンクションの形成、および成熟RPEの機能に関わる因子のRPE65やCRALBP、PEDFの発現が認められた。

【考察】 本開発手法は、ヒトiPS細胞からRPE前駆細胞、およびタイトジャンクションを形成し色素を持った成熟RPEへ、既存の手法よりも高効率かつ簡便に分化誘導できると考えられる。今後は誘導したRPEの遺伝子解析や機能解析を行い、安全性と有効性を検証する。本研究はヒトiPS細胞由来RPEを再生医療等製品として開発するために、大きく貢献するものと期待される。

A-16

加齢に伴う視機能変化に及ぼすミトコンドリア関連因子 Drp1 の関与と Drp1 阻害薬の保護作用

○矢古宇 智弘、中村 真帆、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰
 岐阜薬科大・薬・薬効解析

【背景・目的】加齢は最も身近な生命現象であり、酸化ストレスの上昇などを介して身体機能に大きな影響を及ぼす。視力の低下は加齢に伴い生じる機能低下の一つで、QOLの著しい低下をもたらすが、その根底にあるメカニズムは十分には明らかになっていない。そこで本研究では、細胞内小器官であるミトコンドリアの分裂とアポトーシスに関わる因子 Dynamin-related protein 1 (Drp1) に着目し検討を行った。

【方法】若齢(2ヶ月齢)及び老齢(12ヶ月齢)の C57BL/6J マウスを用い視機能、網膜色素上皮(RPE)の面積、光受容に関連するタンパク質の発現量、Drp1並びにアポトーシス関連因子の発現量を比較検討した。さらに *in vitro* において、RPE 細胞株 (ARPE-19) への H₂O₂ 誘発酸化ストレスに対する Drp1 阻害薬 Mitochondrial division inhibitor (Mdivi1) の保護作用を検討した。

【結果】加齢マウスにおいて視機能の低下、RPE の肥大化及びロドプシンの減少が認められた。また、ウエスタンブロット法で RPE- 脈絡膜複合体・網膜は、ともにアポトーシス関連因子の発現量を増加させた。一方、Drp1 の発現上昇は、RPE- 脈絡膜複合体においてのみ認められた。さ

らに *in vitro* において ARPE-19 への Mdivi1 処置が H₂O₂ 誘発の細胞死を抑制し、細胞の生存性を改善した。

【考察】RPE- 脈絡膜複合体における Drp1 発現量は、加齢によって増加し、アポトーシスを惹起した。このアポトーシスの上昇が網膜の細胞死を生じ視機能低下につながったと考えられる。また、酸化ストレス誘発 ARPE-19 の細胞死が Drp1 阻害によって抑制されたことから、Drp1 阻害薬は加齢に伴う RPE- 脈絡膜複合体細胞死と関連する眼疾患治療薬として有用である可能性が示唆された。

A-17

ヒト網膜色素上皮細胞に対するヘモグロビン及びヘミンの影響

○村松 碧海¹⁾、中村 信介¹⁾、高橋 慶¹⁾、平山 祐²⁾、永澤 秀子²⁾、嶋澤 雅光¹⁾、原 英彰¹⁾
 1) 岐阜薬科大・薬・薬効解析、2) 岐阜薬科大・薬・薬化学

【背景と目的】眼底出血は、網膜血管や脈絡膜血管の破綻によって生じ、糖尿病網膜症、網膜静脈閉塞症及び滲出型加齢黄斑変性で認められる。眼底出血の特徴的な症状として、飛蚊症や視野欠損があり、重篤な視力低下を来す場合もある。眼底出血による障害は、光を感じる感覚網膜やその土台となっている網膜色素上皮 (Retinal pigment epithelium : RPE) において認められるが、詳細なメカニズムは不明である。RPE は網膜と脈絡膜の間に位置し、血液網膜関門を形成している。脈絡膜血管から網膜への物質移行制御、視細胞外節の貪食作用、ビジュアルサイクルの酵素反応など、神経網膜の生理機能の恒常性維持に重要な役割を担っている。したがって、RPE の機能破綻は視機能に著しい影響を及ぼす。一般に過剰量の鉄が細胞毒性を引き起こすことが知られているため、出血に伴い赤血球から放出される Hemin 及び Hemoglobin (Hb) に含まれる鉄成分が、RPE 障害の主要因子であることが考えられる。そこで本研究は、Hemin 及び Hb が RPE に及ぼす影響を解析し、眼底出血による RPE 障害のメカニズムの一端を解明することを目的に検討を行った。

【方法】ヒト培養 RPE 細胞を用いて、Hemin や Hb 障害への鉄の関与について検討するため、鉄認識蛍光プローブ

を用いて細胞内鉄蓄積を評価した。また、細胞死評価のため、RPE 細胞を4日間培養した後、Hemin 及び Hb をそれぞれ 1 μM、10 μM 及び 25 μM の濃度で添加し、添加後経時的に Hoechst33342、Propidium Iodide 染色を用いて死細胞率を評価した。さらに Hemin 含有鉄の関与を検討するために、鉄キレート剤 2,2'-bipyridyl (BP) を Hemin 添加1時間前に処置し、死細胞率を評価した。

【結果】鉄プローブを用いた検討の結果、Hemin 及び Hb それぞれを添加した細胞において、鉄蓄積の上昇が認められた。核染色による細胞死評価の結果、Hemin 25 μM 添加群で死細胞率の増加が認められた。また、Hb 添加群において、10 μM 以上の濃度で有意な細胞死の増加が認められた。さらに、BP の添加により、Hemin に誘発される細胞死が有意に抑制された。

【考察】赤血球に含まれる Hemin 及び Hb 添加により、鉄が RPE に取り込まれることを明らかにした。また、Hemin 及び Hb が RPE の細胞死を誘発し、その細胞障害メカニズムに鉄成分が関与することを明らかにした。さらに、鉄キレート剤が眼底出血の新規治療薬の候補の一つとして有用であることが示唆された。

○森口 真結、中村 信介、井上 雄有輝、嶋澤 雅光、原 英彰
 岐阜薬科大・薬・薬効解析

【背景・目的】 萎縮型加齢黄斑変性は本邦において中途失明原因第4位の難治性疾患で、人口高齢化に伴い患者数は増加している。その病因として網膜色素上皮細胞 (RPE) が障害されることが知られているが、未だ詳細な病態メカニズムは明らかにされておらず有効な治療薬も存在しない。本検討では、RPE 選択的に障害を誘導するヨウ素酸ナトリウム (NaIO₃) を用いて網羅的解析を行い、萎縮型加齢黄斑変性の新規治療標的の探索を目的として検討を行った。**【方法】** 8週齢雄性 C57BL/6J マウスを用いてケタミン・キシラジン混合麻酔下で NaIO₃ (20mg/kg または 40mg/kg) を尾静脈投与した。NaIO₃ 投与7日後に RPE-脈絡膜複合体をサンプリングし、マイクロアレイ解析を行った。また、NCBI データベース (GSE 29801) から萎縮型加齢黄斑変性の患者の遺伝子発現を比較検討した。G protein-coupled receptor 35 (Gpr35) の NaIO₃ 投与後の経時的な発現変化及び局在を RT-PCR、免疫染色により評価した。さらに RPE 細胞株 (ARPE-19) を用いた NaIO₃ 障害モデルを作製し、非選択的 Gpr35 アゴニスト Cromolyn の作用を検討した。

【結果・考察】 Control 群と比較して NaIO₃ 投与マウス及び萎縮型加齢黄斑変性患者いずれにおいても、RPE-脈絡膜複合体で Gpr35 の発現が有意に増加した。RPE-脈絡膜複合体において、Gpr35 は NaIO₃ 投与3日後より持続的に発現が上昇した。NaIO₃ 投与後の RPE 周囲に Gpr35 が局在していた。さらに Gpr35 アゴニスト処置により NaIO₃ 誘発 ARPE-19 細胞死を抑制し、細胞生存活性を改善することを見出した。以上のことから、Gpr35 は萎縮型加齢黄斑変性の病態形成への関与が示唆され、新規治療標的としての可能性が示された。

抗鬱薬ミルタザピンの神経-グリア連関を介したドパミン神経保護効果

○菊岡 亮¹⁾、宮崎 育子^{1,2)}、久保田 菜月²⁾、前田 恵実²⁾、香川 大樹²⁾、守山 雅晃¹⁾、糸 明日香¹⁾、村上 真樹¹⁾、北村 佳久³⁾、浅沼 幹人^{1,2)}

1) 岡山大・院医歯薬総合・脳神経機構、2) 岡山大・院医歯薬学総合・神経情報、
3) 岡山大・院医歯薬総合・臨床薬剤

パーキンソン病(PD)は、黒質ドパミン(DA)神経の脱落を特徴とする神経変性疾患である。DA神経の変性には酸化ストレスの関与が示唆されていることから、抗酸化機構賦活により神経変性進行を抑制できると考えられる。我々は、セロトニン(5-HT_{1A})受容体アゴニストである8-OH-DPATがアストロサイトの5-HT_{1A}受容体を介して抗酸化因子メタロチオネイン(MT)発現を誘導しDA神経保護効果を示すことを報告した。抗鬱薬ミルタザピンはノルアドレナリン α 2受容体および5-HT_{2,3}受容体阻害作用を有し、間接的5-HT_{1A}アゴニストとして作用することから、8-OH-DPATと同様に5-HT_{1A}受容体を介してアストロサイトの抗酸化機構を賦活化し、DA神経保護効果を示すと考えられる。そこで既存薬ミルタザピンのDA神経保護効果およびその作用機序について検討を行った。DA神経毒である6-hydroxy dopamine(6-OHDA)を右側線条体に注入した片側障害性PDモデルマウスにミルタザピンを8日間連日腹腔内投与したところ、障害側黒質におけるDA神経の脱落が有意に抑制された。また、障害側線条体では、ミルタザピンの投与によりMT陽性アストロサイトの有意な増加を確認した。これらの効果は、5-HT_{1A}受容体アンタゴニストの併用投与により有意に

キャンセルされたことから、ミルタザピンは5-HT_{1A}受容体を介してDA神経保護効果を発揮する事が明らかとなった。また胎生15日齢SDラット胎仔からの線条体アストロサイトおよび中脳神経細胞を用いて、ミルタザピンを神経単独培養系およびアストロサイトと神経細胞の共培養系に添加し、6-OHDAに対するDA神経保護効果を検討した。ミルタザピンはアストロサイト存在下においてのみDA神経保護効果を示し、この効果は5-HT_{1A}アンタゴニストでキャンセルされた。また、アストロサイトへのミルタザピン直接添加では、アストロサイト細胞数に変化は認められず、神経にミルタザピンを添加することで得た培養液(Mir-NCM)をアストロサイトに添加するとアストロサイトの増殖が認められた。また、Mir-NCM処置によりアストロサイトにおけるMT発現が有意に増加した。さらに、Mir-NCMをアストロサイトに添加したアストロサイトの培養液(Mir-NCM-GCM)を回収し、DA神経細胞をMir-NCM-GCMで前処置すると、6-OHDA毒性に対する有意なDA神経保護効果が認められた。以上の結果より、ミルタザピンは5-HT_{1A}受容体を介してアストロサイトの抗酸化機構を賦活化し、DA神経保護効果を発揮すると考えられる。

頭部外傷マウスのBlood-brain barrier破綻に対するエンドセリンET_B受容体拮抗薬BQ788による血管修復因子Angiopoietin-1の発現増加を介した抑制効果

○道永 昌太郎¹⁾、中谷 隆聖¹⁾、福留 千裕¹⁾、井上 杏奈¹⁾、岩根 綾¹⁾、田邊 彩美¹⁾、山本 隼人¹⁾、水口 博之¹⁾、小山 豊²⁾

1) 大阪大谷大・薬・薬理、2) 神戸薬科大・薬・薬理

【背景】頭部外傷によるBlood-brain barrier(BBB)の破綻は脳浮腫発生などの一因となる致命的な病態であるが、根本的に治療するための薬物治療法は確立されていない。これまでの研究により、エンドセリン受容体の一種であるET_B受容体の拮抗薬BQ788がFluid percussion injury(FPI)による頭部外傷マウスのBBB破綻を抑制できることを見出した。本研究では、BQ788によるBBB破綻の抑制作用に関わる因子として、血管修復作用を持つAngiopoietin-1(ANG-1)およびANG-1の受容体であるTie2受容体に注目した。

【方法】FPI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)に頭部外傷を与えた。FPI後のBBB破綻は尾静脈より投与したEvans blueの脳組織への漏出により評価した。ANG-1の発現はReal-time PCR法およびEnzyme immunoassay法により確認し、Tie2受容体およびリン酸化されたTie2受容体の発現はウエスタンブロット法により確認した。BQ788(15nmol/日)は側脳室内へ投与し、FPIの2日後から5日後にかけて反復投与した。

【結果・考察】FPIを与えたマウスの脳では2日後から5日後にかけてBBBの破綻が顕著に認められ、7日後以降はゆるやかに回復していた。ANG-1の発現はBBB破綻の回復がみられたFPIの7日後から10日後で増加しており、同様の時間経過でリン酸化Tie2受容体も増加していた。FPIマウスにBQ788を投与するとBBBの破綻が抑制されており、ANG-1の発現増加およびリン酸化されたTie2受容体の増加もみられた。Recombinant ANG-1(1 μ g/日)を投与した場合でもFPI後のBBB破綻は抑制されており、BQ788によるBBB破綻の抑制作用はTie2 inhibitor(40nmol/日)を投与することにより阻害された。これらの結果より、ET_B受容体拮抗薬はANG-1の発現増加およびTie2受容体の活性化を促すことで頭部外傷後のBBB破綻を抑制できることが示され、BBBの破綻を治療するための新たな治療薬となりうる事が期待される。

○渡邊 正知、門田 麻由子、入江 なる実、實井 佑華、田中 優太、田村 豊
福山大・薬・薬理

【目的】 虚血耐性は、非侵襲的虚血などにより侵襲的虚血あるいは再灌流障害に対する耐性を獲得する現象であるが、その詳細は未だ不明である。近年、タンパク質翻訳後修飾の一つである small ubiquitin-related modifier (SUMO) 化修飾が、虚血再灌流時の神経保護作用を制御することが示唆された。そこで本研究では、虚血耐性形成過程における SUMO 化修飾の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】 実験には、シリアンハムスター (*Mesocricetus auratus*: ハムスター) を用いた。ハムスターを環境温度 5°C、短日周期 (明期 8 時間、暗期 16 時間) で飼育することにより冬眠を誘発させ、虚血耐性モデルとして用いた。また、ハムスターの両総頸動脈を 30 分間閉塞後再開通させ、一過性の両側総頸動脈閉塞 (BCCAO) 処置を行ったものを虚血再灌流障害モデルとして用いた。

【結果・考察】 冬眠ハムスターにおける SUMO 化修飾レベルをイムノプロットにて検討したところ、冬眠前の時点では SUMO1 化修飾、SUMO2/3 化修飾いずれも顕著な変動は認められなかった。一方、脳血流量が低下する冬眠時では、複数分子の SUMO2/3 化修飾レベルが著しく亢進していた。中でも、体温調節中枢の視床下部をはじめ、

海馬や小脳において顕著な SUMO2/3 化の増加が認められた。さらに、薬物投与によりハムスターの体温を低下させたところ、冬眠ハムスターと同様に SUMO2/3 化修飾レベルの増加が認められた。これらの結果より、虚血耐性モデルで誘導される SUMO2/3 化修飾は、体温低下レベルに依存して増加することが明らかとなった。次に、体温低下依存的な SUMO2/3 化修飾と神経保護作用との関連性について虚血再灌流障害モデルを用いて検討した。BCCAO 処置後、一過性に SUMO2/3 化修飾レベルの亢進が認められた。BCCAO 処置後に誘導される多くの SUMO2/3 化修飾シグナルは、冬眠ハムスターで観察された SUMO2/3 化修飾シグナルと一致していた。以上の結果より、虚血再灌流時の SUMO 化修飾と体温低下依存的な SUMO 化修飾は、同じ標的分子を介した神経保護作用を担っている可能性が示唆された。

○大野 行弘¹⁾、加藤 将貴¹⁾、國澤 直史¹⁾、清水 佐紀¹⁾、川路 翔平¹⁾、河北 和馬¹⁾、Iha Higor¹⁾、
芹川 忠夫^{1,2)}

1) 大阪薬科大・薬・薬品作用解析、2) 京都疾患モデル研究所

【背景・目的】 Phf24 は $G_{\alpha i}$ -interacting protein (GNIP) とも呼ばれ、 $G_{\alpha o}$ タンパク質の $G_{\alpha i}$ サブユニット機能を促進的に制御し、GABA_B 受容体活性の調節因子として働くことが知られている (Neuron, 84, 123, 2014)。我々は、自然発症性に強直-間代発作を呈する大発作てんかんモデルである Noda epileptic rat (NER) において Phf24 が著しく発現低下していることを見出した (Behav. Genet., 47, 609, 2017)。そこで今回、Phf24 のけいれん発現制御における役割を探る目的で、新たに TALEN 法により作出された Phf24 遺伝子欠損ラットと用い、行動薬理学的および組織化学的検討を行った。

【方法】 実験には雄性 Phf24 欠損ラットおよび F344 ラット (対照群) を用いた。けいれん発現の感受性評価では、pentylenetetrazole (PTZ) 誘発けいれん、pilocarpine (PILO) 誘発けいれんおよび電撃けいれん試験を用いた。また、脳内興奮部位を探索する目的で、電撃けいれん後の脳を採取し、最初期遺伝子産物である Fos タンパク質の免疫染色を行った。

【結果】 PTZ (30-40 mg/kg) を投与した場合、Phf24 欠損ラットは F344 ラットに比べて有意に高いけいれん感受性

を示した。また、PTZ (30 mg/kg) を 10 日間反復投与してキンドリング現象を誘発した場合、Phf24 欠損ラットは F344 ラットに比べ、高いキンドリング感受性を示した。また、Phf24 欠損ラットは、PILO (300 mg/kg) 投与ならびに電撃刺激によるけいれん試験においても、F344 ラットに比べ高いけいれん発現感受性を示した。さらに、電撃刺激 2 時間後の脳内 Fos 発現を解析したところ、大脳皮質、扁桃核、海馬および視床において、部位特異的な Fos 発現の上昇が認められた。

【結論】 以上の結果より、Phf24 はけいれん発作の発現制御に重要な役割を果たしており、特に、大脳皮質、扁桃核、海馬などの部位において異常な神経興奮を抑制制御している可能性が示された。

○武政 薫¹⁾、春見 芳輝¹⁾、石川 直久²⁾、正村 章昌¹⁾、林 博道¹⁾

1)アダプトゲン製薬(株) 研究開発部、2)愛知医科大学

脳の認知機能の異常を主症状とする疾患である認知症(アルツハイマー型)を予防することを主目的とした。domoic acid (DA)による病理的变化に対して(Tsunekawa et al., 2013)、天然植物のエーテル抽出液前処理の効果を検討した。

DA 10^{-7} M 液 $20\mu\text{l}$ をラット脳視床領域に直接注入し、DA 注入1、5、50日後にホルマリン固定を行い、脳を摘出した。薄切標本(水平断面)を tunel 染色、HE 染色等により行い、顕微鏡下で組織像を観察した。天然植物のエーテル抽出物は DA 投与16、3時間前に 1mg/kg の用量で腹腔内に投与した。今回予備実験で効果が見込まれた天然植物は石蓮花(*Graptopetalum paraguayense*: GP)であった(特許出願中)。また GP の抗酸化力を DPPH 法で測定したが、抗酸化力は認めなかった。

Tunel 染色陽性細胞が海馬に多く見られ、海馬台 [parasubiculum (PaS, presubiculum (PrS))] でも陽性であった。1日後の変化を示すか示さないかに応じて50%有効量を算出した(up and down 法)。50%有効量は 0.15mg/kg であった。5日後にはより強い陽性反応が海馬の CA1-4、海馬台 (PaS, PaS) および entorhinal cortex (Ent) で見ら

れた。海馬 tunel 陽性細胞のほとんどが astrocyte (astrocyte は anti-GFAP 抗体染色と tunel 染色の2重染色)あるいは CA 領域顆粒細胞であった。50日後には海馬の染色は強く表れ、核内染色体が核周辺に集まり apoptosis を示した。同様の変化が海馬 CA1-4 部位の顆粒細胞にも見られ、神経細胞死を認めた。50日後には細胞間の細胞外マトリックスに amyloid β の沈着を認めた。

①GP エーテル抽出物前処理によって amyloid β の沈着は認めなかった。

②GP エーテル抽出物前処置グループは1、5日後には tunel 陰性、50日後は海馬領域では陰性で、海馬台 (PaS, PrS)、Ent では陽性であった。

これらの結果から GP は海馬領域では海馬台 (PaS, PrS)、Ent を除いてほとんどの細胞に生じる apoptosis を抑制した。さらに amyloid β の沈着も抑制した。このことは、認知症で見られる病理変化を抑制するものと考えられる。

A series of horizontal dashed lines for writing.

B 会 場

D313

オミクス解析による肺高血圧症の新規治療標的探索

○西村 有平¹⁾、澤田 博文²⁾、三谷 義英⁴⁾、大下 裕法⁵⁾、平山 雅浩³⁾、丸山 一男²⁾

1)三重大・院医・薬理ゲノミクス、2)三重大・院医・麻酔集中治療、3)三重大・院医・小児科、

4)三重大学医学部附属病院 周産母子センター、5)名古屋市立大・院医・新生児・小児医学

肺高血圧症の病態を解明し、新たな治療法を開発することを目的として、様々な肺高血圧症モデル動物が作成されてきた。これらのモデル動物で認められる肺高血圧症の病態は、モデル毎の特徴が認められる。各モデルのトランスクリプトームを比較することは、各モデルに特徴的な病態メカニズムの解明や、その病態に対する治療標的分子の同定に有効であると考えられる。本研究では、肺血管の中膜肥厚を主要な病変とする慢性低酸素誘発肺高血圧モデルと、内膜肥厚や叢状病変を主体とする VEGF 受容体阻害薬・慢性低酸素誘発肺高血圧モデルに注目し、各モデルのトランスクリプトームの比較解析を行った。各モデル間で発現が有意に異なる遺伝子の中で、特に発現変化の相関が高い5つの遺伝子を同定した。これら5つの遺伝子の転写因子結合領域の比較解析から、VEGF 受容体阻害薬・慢性低酸素誘発肺高血圧モデルにおいて Fos-related antigen-2 (Fra-2) が活性化していることが予測された。そこで、VEGF 受容体阻害薬・慢性低酸素誘発肺高血圧モデルにおける免疫組織染色を行ったところ、内膜肥厚部や叢状病変の細胞において Fra-2 が核内に集積していることが明らかになった。Fra-2 の発現は TGF β 刺激により増加すること、

肺高血圧症では TGF β シグナルが増加すること、Fra-2 はヒト肺高血圧症でも発現が増加することなどが報告されている。これらの知見から、Fra-2 の活性化が肺高血圧症における内膜肥厚や叢状病変に関与している可能性が示唆される。現在、この可能性に関する検討を進めている。

Advanced glycation end products による血管新生促進機序の解明

○山崎 由衣¹⁾、西中 崇¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、森 秀治²⁾、和氣 秀徳³⁾、西堀 正洋³⁾、高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医・薬理、2)就実大・薬、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

【目的】 糖尿病病態時には、過剰な血管新生が誘導され、脆弱な血管が形成されることによって、糖尿病網膜症などの合併症を増悪することが知られている。また、高血糖状態が持続することによって血液や組織中に advanced glycation end products (AGEs) が蓄積し、組織障害を誘導することが知られている。さらに、AGEs は血管内皮細胞に取り込まれること、糖尿病病態における過剰な血管新生に関与することが知られている。しかしながら、血管内皮細胞による AGEs の取り込みが血管管腔形成の促進に関与するかは不明であった。そこで本件研究では、これらを解明するために検討を行った。

【方法】 マウス由来血管内皮細胞 (b. End5) をマトリゲル上に播種し、AGEs 添加16時間後における血管管腔形成を共焦点顕微鏡により観察し、定量化した。b. End5細胞による Alexa Fluor 488- 標識 AGEs の取り込みはフローサイトメトリーによって解析した。タンパク質発現は western blot により解析した。

【結果】 AGE2 および AGE3 は、濃度依存的かつ有意に血管管腔形成を促進した。また、b. End5 による AGE2 および AGE3 の取り込みは濃度依存的かつ有意に増加した。

AGE2 および AGE3 処置によって nuclear factor- κ B (NF κ B) のリン酸化率は上昇した。また、b. End5 による AGEs の取り込みおよび血管管腔形成は、ピノサイトーシス阻害剤である 5-(N-ethyl-N-isopropyl) amiloride および NF κ B の阻害剤である pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) によって有意に抑制された。

【考察】 以上の結果から、ピノサイトーシスによって細胞内に取り込まれた AGE2 および AGE3 が NF κ B シグナルを活性化することで、血管管腔形成を促進している可能性が考えられた。

マクロファージによる終末糖化産物の取り込みに対する硫酸化多糖類の影響

○西中 崇¹⁾、山崎 由衣¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、森 秀治²⁾、和氣 秀徳³⁾、西堀 正洋³⁾、高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医・薬理、2)就実大・薬、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

【背景・目的】終末糖化産物(advanced glycation end-products, AGEs)はフルクトースやグルコースなどの還元糖がタンパク質と非酵素的に反応して形成された構造体の総称であり、糖尿病合併症や加齢生疾患などの発症に関与している。特に、糖代謝中間体であるグリセルアルデヒドに由来するAGE-2やグリコールアルデヒドに由来するAGE-3は強い生理活性を示すことが知られている。我々はこれまでに、AGE-2とAGE-3はスカベンジャー受容体であるScavenger receptor class A (SR-A/CD204)を介してマクロファージに取り込まれること、この取り込みは硫酸化多糖類であるfucoidanによって抑制されることを報告している。本研究では、マクロファージによるAGE-2ならびにAGE-3の取り込みに対する各種硫酸化多糖類の影響について検討を行った。

【方法】実験には、マウス末梢血由来単球細胞株RAW264.7を用いた。AGEsはBSAとグリセルアルデヒドあるいはグリコールアルデヒドを混合し、37°Cにおいて7日間インキュベートすることにより調製した。細胞内取り込みの評価には、蛍光標識したAGEsを用いた。取り込まれたAGEsならびにSR-A発現量はフローサイト

メトリー法にて解析した。

【結果】Fucoidan, carrageenanならびにdextran sulfateは用量依存的にAGE-2とAGE-3の取り込みを抑制した。一方、chondroitin sulfate, heparinならびにhyaluronic acidはAGE-2とAGE-3の取り込みに対する影響は認められなかった。FucoidanとcarrageenanはAGEsによるSR-Aの発現上昇を抑制したが、dextran sulfateはAGEsによるSR-Aの発現上昇に対する抑制作用は認められなかった。AGEs取り込みの抑制作用を示さなかった硫酸化多糖類のうち、chondroitin sulfateはAGE-3によるSR-Aの発現上昇を抑制した。

【考察】マクロファージにおけるAGE-2ならびにAGE-3の取り込みやSR-A発現量に対する影響は各種硫酸化多糖類によって異なっていることが示唆された。

マウス腹腔マクロファージにおけるサイトカイン産生に及ぼすポリリン酸の影響

○原田 佳奈^{1,2)}、安部 奈央²⁾、中嶋 康陽²⁾、楠本 萌²⁾、中富 一彰²⁾、平山 実穂²⁾、岡本 桃子²⁾、木村 美月²⁾、秀 和泉¹⁾、田中 茂¹⁾、酒井 規雄¹⁾、石原 熊寿²⁾

1)広島大・院医歯薬保健・神経薬理、2)広島国際大・薬・神経薬理

【背景】ポリリン酸は数十～数百個のリン酸が高エネルギーリン酸結合により直鎖状に結合した分子であり、脳、血液、骨など様々な組織に存在するが、その生理的役割はほとんど明らかにされていない。我々はこれまでに、グラム陰性菌成分リポ多糖(LPS)で刺激したマクロファージにおける炎症関連分子inducible nitric oxide synthase (iNOS)の発現上昇をポリリン酸が抑制することを見出した。しかし、ポリリン酸が他の炎症関連分子の産生に及ぼす影響は不明である。本研究では、マウス腹腔マクロファージを用い、LPSによる各種サイトカインinterleukin (IL)-1 β 、IL-6、IL-10、chemokine (CXC motif) ligand (CXCL) 10の産生誘導に及ぼすポリリン酸の影響を調べた。また、ポリリン酸の作用機構を、Janus kinase (JAK)1/tyrosine kinase (TYK)2-signal transducer and activator of transcription (STAT)1経路に焦点を当て検討した。

【方法】C57BL/6Jマウス(雄、8-16週齢)の腹腔から採取したマクロファージに100 μ M(リン酸換算濃度)ポリリン酸(平均リン酸数130個)を処置し、5分後に100ng/mL LPSを処置した。サイトカインのmRNAはリアルタイムPCR、放出量はELISAにより測定した。JAK1、TYK2、

STAT1、Src homology-2 domain containing protein tyrosine phosphatase (SHP)2の活性化は、リン酸化を指標としてウェスタンブロッティングにより解析した。

【結果・考察】マクロファージへのポリリン酸処置は、LPSによるCXCL10のmRNA発現と放出を抑制した。一方、IL-1 β 、IL-6、IL-10のmRNA発現と放出量に対しては、ポリリン酸は抑制作用を示さなかった。CXCL10やiNOSの発現誘導には転写因子STAT1のリン酸化が重要である。LPS処置は2-4.5時間後にSTAT1の早期リン酸化、6-24時間後に持続的リン酸化を引き起こし、ポリリン酸はこれらを共に抑制した。次にSTAT1上流のチロシナーゼJAK1/TYK2の活性化を検討したところ、ポリリン酸はLPS処置2時間後のJAK1とTYK2の早期活性化を抑制した。一方、LPS処置12時間後のSTAT1リン酸化持続期においては、ポリリン酸はJAK1とTYK2の活性化を抑制せず、STAT1を脱リン酸化するSHP2の活性化を促進した。以上より、ポリリン酸の新たな作用として、JAK1/TYK2の抑制やSHP2の活性化を介してSTAT1リン酸化を抑制し、LPS刺激マクロファージにおけるCXCL10やiNOSの発現を抑制することが示唆された。

○喜多 紗斗美^{1,2)}、田頭 秀章²⁾、岩本 隆宏²⁾

1) 徳島文理大・薬・薬理、2) 福岡大・医・薬理

ミトコンドリアは、エネルギー源となる ATP の産生、アポトーシスの誘導、活性酸素種 (ROS) の生成および細胞内 Ca^{2+} 貯蔵・制御など、多彩な細胞機能を担うオルガネラである。心筋細胞や血管平滑筋細胞において、ATP 産生と細胞内 Ca^{2+} 制御は心臓ポンプ機能や血管トーンスの維持に必須であり、また、ROS 生成は心血管病の病態形成に密接に関係している。近年、ミトコンドリア Ca^{2+} 輸送体の分子実体に関する研究が急速に進展しており、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入系として Ca^{2+} ユニポータ (MCU) が同定された。また、ミトコンドリアからの Ca^{2+} 排泄系としては、ミトコンドリア内膜の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCLX) が重要な役割を果たしていることが報告された。ミトコンドリア内の Ca^{2+} 濃度は Ca^{2+} 輸入系と Ca^{2+} 排泄系の Ca^{2+} 輸送バランスにより制御されているが、これら Ca^{2+} 輸送体の心血管機能や心血管病発症機序への関与についてはまだ不明な点が多い。最近、我々は MCU と NCLX の遺伝子欠損マウスや心血管特異的高発現マウスを作製し、これら Ca^{2+} 輸送体の心血管系 *in vivo* 機能解析を進めている。これまでに、NCLX 遺伝子欠損マウスでは、心機能 (心拍数、左室駆出率、左室内径短縮率)

が正常に維持されているが、アゴニスト刺激による昇圧反応 (静脈内投与) および血管収縮反応 (摘出血管標本) が減弱していることを見出した。一方、MCU 遺伝子欠損マウスでは、これらの心血管機能はいずれも正常に維持されていた。また、NCLX 遺伝子欠損マウスを用いて圧負荷心不全モデルを作製したところ、心肥大・心不全の病態形成が軽減されるという興味深い結果を得た。さらに、心筋特異的プロモーターを用いて NCLX 高発現マウスを作製すると、このマウスでは顕著な心肥大が誘導されることを見出した。これらの結果は、ミトコンドリア Ca^{2+} 輸送体 (特に、NCLX) の心血管病発症機序への関与を示唆している。現在、MCU/NCLX 遺伝子改変マウスの二重交配により、 Ca^{2+} 輸送バランスの重要性について追究している。

○松浦 渉、中本 賀寿夫、徳山 尚吾
神戸学院大・薬・臨床薬学

【背景】 脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain : CPSP) は脳卒中後に生じる難治性の合併症として知られている。しかしながら、現行の治療法を用いても CPSP を根治させることが困難であるため、有効な治療戦略の開発が急務である。近年、神経ペプチドの一つである orexin-A は脳卒中患者の髄液中で濃度が低下していることが報告されている。Orexin 神経は、視床下部外側野から青斑核の下行性疼痛制御系に関与するノルアドレナリン作動性神経および大縫線核のセロトニン作動性神経の起始核に投射し、疼痛の制御に関与していることが示されている。そこで本研究では、CPSP に対する orexin-A を介した下行性疼痛制御系の関与について検討した。

【方法】 5週齢の ddY 系雄性マウスを用いた。全脳虚血モデルマウスは30分間の両側総頸動脈結紮 (bilateral carotid arteries occlusion : BCAO) によって作製した。マウス後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数は von Frey test を用いて評価した。Orexin-A (50, 150 pmol/mice) を脳室内投与 (i.c.v.) 後、60分間疼痛評価を行った。Yohimbine (α_2 受容体アンタゴニスト; 16 $\mu\text{g}/\text{mice}$) および WAY100635 (5-HT_{1A} 受容体アンタゴニスト; 40 $\mu\text{g}/$

mice) の脊髄腔内投与 (i.t.) は、orexin-A を投与する15分前に投与した。BCAO 3日後のマウスに orexin-A (150 pmol/mice, i.c.v.) 投与後、ノルアドレナリン作動性神経マーカー tyrosine hydroxylase (TH)、セロトニン作動性神経マーカー tryptophan hydroxylase (TPH) および神経活性化マーカー c-Fos との共局在を検討した。

【結果】 BCAO 3日後の後肢において機械的刺激に対するアロディニアが示された。その機械的アロディニアの増加は、orexin-A 用量依存的に有意に抑制された。また、orexin-A の投与によって認められた機械的アロディニアの抑制は yohimbine および WAY100635 の前処置によって拮抗された。Orexin-A (150 pmol/mice, i.c.v.) 投与後、青斑核および大縫線核における c-Fos 発現誘導が増加し、これらの陽性細胞は TH および TPH と共局在した。

【考察】 Orexin-A は、下行性疼痛制御系を介して CPSP による機械的アロディニアを抑制する可能性が示された。

○笹瀬 人暉、和田 進太郎、堂本 将輝、伊藤 志穂、出山 諭司、檜井 栄一、金田 勝幸
金沢大・医薬保健域・薬・薬理

てんかん患者においてストレスは発作誘発要因の一つであると考えられているが、その神経メカニズムは分かっていない。ストレス負荷時には、内側前頭前野 (medial prefrontal cortex, mPFC) において noradrenaline (NA) の遊離が亢進すること、また、NA は mPFC V 層錐体細胞を興奮させることが報告されている。そこで本研究では、ストレスによるてんかん発作の誘発に、mPFC における NA による興奮性作用が寄与している可能性を、脳スライス標本を用いて電気生理学的に検討した。

雌雄 C57BL/6J マウス (4~6週齢) から脳スライス標本作製し、mPFC V 層錐体細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。Picrotoxin (Pic, 30 μM) による GABA 作動性神経伝達抑制下で NA (10 μM) をバス適用すると、数分以内に持続性の脱分極とそれに伴う群発性活動電位から成る、てんかん発作様活動 (epileptiform activity, EA) が連続的かつ高頻度に誘導された。一方、Pic のみの適用では散発的な EA しか認められなかった。細胞集団の活動を反映するフィールドポテンシャル記録とホールセル記録の同時記録から、EA の発生は同期的であることが分かった。また、EA は mPFC を局所的に単離

した脳スライスにおいても誘導された。EA は terazosin (5 μM) の追加適用による α_1 アドレナリン受容体 (AR) の阻害により抑制されたが、atipamezole (3 μM)、あるいは、timolol (10 μM) による α_2 AR、あるいは、 β AR の阻害では抑制されなかった。さらに、Pic 存在下では phenylephrine (100 μM) による α_1 AR 刺激は NA と同様の EA を誘導した。また、EA は CNQX (10 μM)、および、AP-5 (50 μM) による AMPA 型、および、NMDA 型グルタミン酸受容体の阻害により抑制された。

以上より、GABA 作動性神経伝達抑制下で NA は α_1 AR を介して mPFC V 層錐体細胞に EA を誘導すること、また、EA は mPFC 局所神経回路においてグルタミン酸作動性神経伝達を介して同期的に発生することが明らかとなった。これらの結果は、ストレスによるてんかん発作の誘発に mPFC での NA の興奮性作用が寄与する可能性を示している。

マウスにおいて覚醒剤メタンフェタミンにより誘起される行動量増加と脳内 cFos 発現に及ぼす T 型カルシウムチャネル阻害薬の効果

○小池 寧々¹⁾、安井 洋樹¹⁾、関口 富美子¹⁾、田邊 元三²⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2)近畿大・薬・有機薬化学

低電位活性化型カルシウム (LVA) チャネルに分類される T 型カルシウムチャネル (T チャネル) には、Ca_v3.1、Ca_v3.2、Ca_v3.3 の3つのサブタイプがあり、いずれも神経細胞の興奮性調節や神経伝達物質の自発性遊離に重要な役割を果たすと考えられている。T チャネルは、高電位活性化型カルシウム (HVA) チャネルとは異なり、いずれも $\alpha 1$ サブユニット単独で機能しているため、 $\alpha 2\delta$ サブユニットに作用する pregabalin の影響を受けない。T チャネルは、てんかんの欠神発作の発症に関与することが知られているが、痛覚、痒み、不安抑制、記憶などにも深く関わることが明らかにされつつある。興味あることに、ラットにおいて覚醒剤のアμφエタミンによって誘発される行動量増加が T チャネル阻害薬で抑制されること、また野生型 C57BL/6J マウスで認められるアμφエタミン誘起行動量増加が Ca_v3.2 ノックアウトマウスでは減弱していることが報告されている。本研究では、マウスにおいて覚醒剤メタンフェタミン (MA) 誘起行動量増加に及ぼす T チャネル阻害薬 TTA-A2 の効果を pregabalin と比較検討し、さらに cFos 発現を指標として MA により興奮する脳部位を同定して T チャネル阻害薬の影響を調べた。

雄性 C57BL/6J マウスを実験の3日前から毎日4時間、

行動量測定環境に馴化させた。TTA-A2 1mg/kg、pregabalin 1~30mg/kg あるいは vehicle を腹腔内投与し、その15分後に MA 2mg/kg を皮下投与した後、行動量を2.5時間測定した。MA 投与3時間後に麻酔下で断頭して摘出した脳をホルマリン固定した後、スライス切片を作成し、抗 cFos 抗体を用いて免疫染色を行い、脳の各部位における cFos 陽性細胞数をカウントした。

MA による行動量増加は、1mg/kg の TTA-A2 前処置によって強く抑制された。一方、pregabalin は3mg/kg で MA 誘起行動量増加を僅かに抑制する傾向を示したが、1、10、30mg/kg では無効であった。MA 投与後のマウスの脳では、前頭前皮質、側坐核、線条体、分界条床核、視床室傍核、視床下部室傍核、海馬、扁桃体基底外側核、腹側被蓋野において cFos 陽性細胞数が有意に上昇していたが、これらはすべて TTA-A2 により抑制される傾向が認められ、特に前頭前皮質、線条体、視床室傍核、海馬において統計学的に有意な抑制効果が検出された。

以上より、C57BL/6J マウスにおいて MA により誘起される行動量増加と脳内各部位における神経興奮に T チャネルが関与していることが示唆された。

成熟マウスにおける Reelin の前頭前皮質内投与が MK801 誘発性行動障害に与える影響

○浅野 裕樹¹⁾、澤幡 雅仁¹⁾、北川 佳奈子¹⁾、常浦 祐未¹⁾、永井 拓¹⁾、河野 孝夫²⁾、鍋島 俊隆^{3,4)}、服部 光治²⁾、山田 清文¹⁾

1)名古屋大・院医・医療薬学・病院薬剤部、2)名古屋市立大・院薬・病態生化学、3)藤田保健衛生大・医療科学・先進診断システム探索、4)藍野大学

【背景】 Reelin は細胞外マトリックスを構成する分泌性糖タンパクである。成体脳では主に GABA 作動性介在ニューロンから分泌され、シナプス可塑性や樹状突起の形成を調節し、記憶や学習において重要な役割を果たすことが報告されている。また、統合失調症患者において Reelin の発現が低下していたことが報告がされており、Reelin の機能障害は統合失調症などの精神疾患と関連すると考えられている。一方で、Reelin の脳室内投与が統合失調症のモデル動物で観察される行動障害を改善することが報告されているが、その詳細なメカニズムについては不明である。

【目的】 Reelin がどの脳部位に作用するのかを調べるため、まず統合失調症との関連が知られている前頭前皮質に着目し、Reelin の前頭前皮質内投与が、NMDA 受容体の非競合的拮抗剤である MK801 の投与によって惹起される行動障害に対してどの様な影響を与えるかについて検討した。

【方法】 300nM のマウス Reelin リコンビナントタンパクを7-8週齢の C57BL/6J 雄性マウスの前頭前皮質 (medial prefrontal cortex : mPFC) に0.5 μ l/site で両側に投与し、

その5日後から行動解析を行った。行動解析は prepulse inhibition、新奇物体認識、Y-maze 試験の順に実施し、MK801 (0.15mg/kg) は各試験の30分前に腹腔内投与した。免疫組織化学的解析は MK801 の腹腔内投与2時間後に灌流固定を行い、常法に従って mPFC 内の c-Fos 陽性細胞数を計測した。

【結果・考察】 Reelin の前頭前皮質内投与は新奇物体認識試験において認められる MK801 誘発性の認知記憶障害を有意に改善した。一方、prepulse inhibition および Y-maze 試験において、Reelin の前頭前皮質内投与は MK801 誘発性の感覚情報処理障害や短期記憶障害に対して改善効果を示さなかった。また、免疫組織化学的解析の結果、Reelin は、mPFC の特に infralimbic cortex で MK801 による c-Fos 陽性細胞数の増加を有意に抑制した。以上の結果から Reelin の前頭前皮質内投与は MK801 により惹起された過剰な神経活動を抑制し、認知記憶障害を改善すると考えられる。

周産期や幼若期の環境的要因曝露により惹起される精神行動異常における prostaglandin E₂の関与

○高須 光平¹⁾、肥田 裕丈^{1,2)}、武藤 利奈¹⁾、山田 清文²⁾、尾崎 紀夫³⁾、吉見 陽^{1,3)}、野田 幸裕^{1,2,3)}

1)名城大・薬・病態解析学I、2)名古屋大・病院・薬剤部、3)名古屋大・院医・精神科・親と子どもの心療科

精神疾患の発症には、発達段階における神経細胞や神経回路網の障害が関与する神経発達障害仮説が提唱されている。神経発達障害を惹起する環境的要因として、周産期のウイルス感染や、出産時の低酸素脳症、周産期や幼若期の育児放棄などが報告されている。こうした周産期や幼若期における環境的要因の曝露により種々の炎症性メディエーターが誘導されるが、成体期の精神行動への影響は明らかにされていない。本研究では、周産期や幼若期マウスに様々な環境的要因を曝露したことによる成体期の情動・認知機能行動に与える影響および、それらの行動における炎症性メディエーターの関連性について検討した。

周産期ウイルス感染を模したモデル動物として生後2から6日齢に免疫異常を惹起させる合成二本鎖RNAアナログの polyribonucleosinic-polyribocytidilic acid (poly I:C) を投与したモデルマウス、周産期低酸素脳症を模したモデル動物として生後2日齢に二酸化炭素に20分間曝露させたモデルマウス、周産期や幼若期に育児放棄を模したモデル動物として生後1から21日齢に母体と隔離飼育を施したモデルマウスをそれぞれ作製した。

周産期に poly I:C を投与すると成体期において社会性行動試験における社会性の低下、新奇物体認知試験における物体認知機能の低下、プレパルス抑制試験における情報処理機能の低下が認められた。周産期や幼若期の二酸化炭素曝露および隔離飼育により成体期において情報処理機能の低下が認められた。環境的要因を曝露した直後の脳内炎症性メディエーター [prostaglandin E₂ (PGE₂), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α)] 量を ELISA 法にて測定したところ、PGE₂ が全ての要因によって上昇していた。周産期の生後2から6日齢のマウスに PGE₂ を投与すると poly I:C 投与と同様に成体期において同様に社会性の低下、物体認知機能の低下、情報処理機能の低下が認められた。

以上の結果から、周産期や幼若期の様々な環境的要因の曝露は成体期において精神行動異常を惹起し、その発現には共通して神経発達期における脳内 PGE₂ の上昇が関与していることが示唆された。

恐怖記憶学習における CGRP と Npas4 の関係性に関する研究

○三島 脩太、大塚 青海、松内 省太、福持 花奈、西村 航輝、橋川 直也、橋川 成美
岡山理科大・理・臨床生命

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は37個のアミノ酸からなる神経ペプチドの1種で、中枢神経系で重要な役割を果たす。我々は、これまでに CGRP をマウスに脳室内投与 (i.c.v.) を行ったときに、海馬依存的な恐怖記憶の消去を引き起こすことを報告してきた。CGRP (0.5 nmol) 投与は、受動回避試験で暗室から明室に入るまでの時間が短くなり、文脈学習試験ではすくみ時間を減少させた。さらに、CGRP 受容体拮抗薬である CGRP8-37 の投与によって恐怖記憶の消去が抑制されたことから、この反応は CGRP 受容体を介したものであると示唆された。そこで我々は、CGRP による恐怖記憶消去のメカニズムを明らかにするためにマウス脳海馬の遺伝子発現をマイクロアレイ解析で評価した。CGRP 脳室内投与により *Slc6a3* (ドーパミン輸送体)、*Nt3* (ニューロトロフィン3) が減少した。一方で *Bdnf* (脳由来神経成長因子)、*Fos*、*Gad2* (グルタミン酸塩デカルボキシラーゼ; GAD65)、*Npas4* (neuronal PAS domain protein 4) などが増加した。

Npas4 は転写調節因子であり、不安、抑うつ行動や学習行動障害に影響を及ぼすことが知られている。そこで我々は *Npas4* に着目した。ウエスタン・ブロッティングによ

ってマウス脳海馬における *Npas4* のタンパク量を解析したところ発現量が CGRP により増加した。またヒストン脱アセチル化酵素である HDAC5 とリン酸化 HDAC5 の発現量を調べたところ CGRP によりリン酸化量が増加した。更に、CGRP のセカンドメッセンジャーである PKA を阻害する PKA 阻害薬 (H89; 0.1 mg/kg) 投与により CGRP によるリン酸化量は減少した。以上のことから CGRP は PKA → リン酸化 HDAC5 → *Npas4* の経路を活性化させていることが示唆された。

B-12

炎症惹起因子 HMGB1 の糖代謝制御に対する生理的役割の検討

○兼森 玄¹⁾、勅使川原 匡¹⁾、劉 克約¹⁾、和氣 秀徳¹⁾、王 登莉¹⁾、高橋 英夫²⁾、森 秀治³⁾、西堀 正洋¹⁾

1)岡山大学・院医歯薬総合・薬理、2)近畿大学・医・薬理、3)就実大学・薬・薬理

【背景・目的】High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は、核内に存在する非ヒストン型 DNA 結合タンパク質の1つであるが、近年、ダメージ関連分子パターン (DAMPs) としての働きがあることが知られている。組織障害が起こると、HMGB1 は核内から核外へと移行し、やがて細胞外へと放出される。放出された HMGB1 は、近傍の細胞や放出した細胞自身の TLR2/4 や RAGE といった受容体に結合し、炎症反応カスケードを進行させるとともに、さらなる HMGB1 の放出を促進する。この一連の流れによる炎症反応の増悪化は、様々な炎症関連疾患で見られるが、その1つに糖尿病合併症がある。糖尿病病態においては、高血糖状態により生じる終末糖化産物 (AGE) が細胞膜上の RAGE に結合することで、HMGB1 の放出が起こる。そして放出された HMGB1 による慢性的炎症反応が、糖尿病性腎症、網膜症、神経障害などの細小血管障害を引き起こす。しかし、糖尿病の本態である糖代謝異常と HMGB1 との関連性についての報告は少ない。今回、我々は2型糖尿病モデルマウスや組換え体 HMGB1 タンパクを投与した健常マウスを用いて、糖代謝関連因子と HMGB1 の関連性を検討した。

【方法】2型糖尿病モデル (db/db マウス、7週齢) や、18時間絶食後に再摂食させた健常マウス (C57BL/6 マウス、8週齢) の肝における HMGB1 の動態を、Western Blot 法や

免疫組織化学的手法を用いて調べた。さらに、ELISA 法を用いて末梢血の HMGB1 濃度も測定した。また、ヒト組換え体 HMGB1 タンパクを、健常マウス (C57BL/6 マウス、8週齢) に尾静脈投与することで、インスリン感受性や耐糖能にどのような影響が現れるかを、経口糖負荷試験 (OGTT) やインスリン負荷試験 (ITT) などを用いて調べた。

【結果・考察】db/db マウスは、血中 HMGB1 濃度の増加、肝における HMGB1 の核局在の減少が見られた。これは、糖尿病による高血糖・高インスリン刺激、あるいは、それに続く二次性障害によって引き起こされている可能性が考えられた。また、生理的な血糖・インスリン刺激条件下として絶食後再摂食の C57BL/6 マウスに同様の解析をおこなったところ、摂食刺激による明らかな肝 HMGB1 の核外放出は見られなかった。しかし、個体全体としての血中 HMGB1 濃度は、摂食刺激によって増加していた。さらに、C57BL/6 マウスにヒト組換え体 HMGB1 タンパクを投与することで、肝におけるインスリン感受性が向上していた。これらの結果から、炎症惹起因子である HMGB1 は、糖尿病における糖代謝異常だけでなく、健常マウスの生理的摂食条件下において、末梢臓器の糖代謝制御に何らかの関与をする可能性が示唆された。

B-13

トロンボモジュリン/トロンビン系は HMGB1 を不活性化することでオキサリプラチン誘発性末梢神経障害の発症を抑制的に制御している

○林 佑亮¹⁾、坪田 真帆¹⁾、福田 亮太郎¹⁾、宮崎 貴也¹⁾、西堀 正洋²⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大学・薬・病態薬理、2)岡山大学・院医歯薬総合・薬理

化学療法誘発性末梢神経障害 (CIPN) は、がん患者の QoL を低下させ、抗がん剤の減量や中止に繋がる可能性のある重大な副作用の1つである。我々は、damage-associated molecular patterns (DAMPs) の1つである high mobility group box 1 (HMGB1) が、種々の抗がん剤によって生じる CIPN の発症に関与することを明らかにしている。また、血管内皮に発現する膜タンパク、トロンボモジュリン (TM) の5つのドメイン (D1~D5) のうち、細胞外に存在する D1~D3 からなる遺伝子組換えヒト TM 製剤である TM α が、HMGB1 を不活性化することで CIPN の発症を予防することも証明している。TM α は D1 で HMGB1 を吸着し、D2 に結合したトロンビン (TB) による HMGB1 分解を促進することで、HMGB1 誘起アロディニアを抑制するとの知見が得ていることから、TM α の CIPN 予防効果の発現には内因性 TB の存在が必須であると考えられる。そこで本研究では、オキサリプラチン (OHP) 誘発性末梢神経障害に対する TM α の予防効果を評価し、内因性 TB の活性や産生を阻害する各種抗凝固薬の併用による影響を検討した。

マウスに OHP 5 mg/kg を腹腔内投与することで持続的

アロディニアが誘起され、これは抗 HMGB1 中和抗体または TM α の前投与により阻止された。TM α の OHP 誘起アロディニアに対する予防効果は、抗 TB 薬であるアルガトロバンおよびダビガトランを、それぞれ単回腹腔内および経口投与することで阻止され、またビタミン K 代謝拮抗薬ワルファリンを3日間反復経口投与することで消失した。経口第 X a 因子阻害薬リバーロキサバンは、単回投与では無影響であったが、3日間反復投与することで TM α のアロディニア予防効果を有意に減弱させた。さらに、単独ではアロディニアを誘起しない 1 mg/kg の OHP を投与したマウスに、アルガトロバンまたはワルファリンを連日反復投与すると、遅発性アロディニアが誘起され、これらのマウスでは血漿中 HMGB1 濃度が有意に上昇していた。

以上より、OHP 誘発性末梢神経障害に対する TM α の予防効果は、TB の産生または活性を抑制する抗凝固薬の併用によって減弱されること、さらに、内因性 TM/TB は血中の HMGB1 を吸着・分解することで OHP 誘起アロディニアの発症を抑制的に制御している可能性が示唆された。

B-14

マウスにおいてオキサリプラチン誘発性末梢神経障害は肝障害によって増悪する

○堂本 莉紗¹⁾、西村 莉香¹⁾、関口 富美子¹⁾、坪田 真帆¹⁾、宮本 朋佳²⁾、小泉 祐一²⁾、西堀 正洋³⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2)(医)生長会 府中病院、3)岡山大・院医歯薬総合・薬理

核内タンパク high mobility group box 1 (HMGB1)は炎症や組織損傷に伴って細胞外へ放出され炎症や痛みのシグナルを増強する。我々はHMGB1が化学療法誘発性末梢神経障害(chemotherapy-induced peripheral neuropathy; CIPN)の発症に重要な役割を果たすことを明らかにしている。一方、飲酒やウイルス感染などに伴って肝細胞から細胞外へ放出されるHMGB1が、肝機能障害の進行に関与する可能性が示唆されている。CIPNを高頻度で誘発する抗がん剤オキサリプラチン(OHP)は、腎排泄型であるため肝障害患者にも投与されるが、まれに線維性肝変性(類洞閉塞症候群)を誘起する。本研究では、CIPNと肝障害の関係を解明する目的で、マウスに肝障害を発症させた場合のOHP誘起アロディニアに及ぼす影響を調べて内因性HMGB1の関与を検討し、さらに、生長会府中病院の外来化学療法室でOHPを投与した患者150人の情報からCIPNと肝機能との関係を解析した。マウスにおいて、OHP 1, 3あるいは5mg/kgを単回腹腔内投与し、von Frey法で後肢足底における機械的侵害受容閾値を測定したところ、3-5mg/kgで持続的アロディニアが検出されたが、1mg/kgでは有意な閾値変化は見られなかった。そこで、

肝障害誘発薬CCl₄50mg/kgを腹腔内投与した翌日に、単独ではアロディニアを誘起しない1mg/kgのOHPを投与し、さらにその1日後と3日後にCCl₄を投与したところ、明らかなアロディニアが持続的に誘起された。また、25%エタノール20ml/kgを朝夕1日2回宛5日間反復経口投与するアルコール性肝障害モデルマウスにおいて、3回目のエタノール投与3時間後にOHP 1mg/kgを投与したところ、明らかなアロディニアが持続的に観察された。次に、CCl₄反復投与による肝障害マウスにおいて、抗HMGB1中和抗体あるいはHMGB1不活性化作用を有する遺伝子組換えヒト可溶性トロンボモジュリンを、OHP投与1時間前と、1日後および3日後のCCl₄投与1時間前の計3回腹腔内投与したところ、アロディニアの発症が完全に阻止された。最後に、臨床データの統計解析により、OHP投与後にALTが37U/L以上に上昇した患者では、その後、CIPNの重症度が有意に高くなることが判明した。以上より、肝障害はOHP投与に伴うCIPNの増悪因子であることが示唆された。

B-15

シンバスタチンによるオキサリプラチン誘発冷アロディニア改善作用にはiNOSおよびSTAT3が関与する

○岩城 杏奈、糸 和彦、大澤 匡弘

名古屋市立大・院薬・神経薬理

【背景、目的】オキサリプラチンは大腸がんや膵がんに対して用いられる抗がん剤である。副作用として末梢神経障害が知られており、ほぼ全例に冷刺激に対する感覚過敏(冷アロディニア)が生じることが報告されているが、その発症機序は不明であり有効な治療法は確立されていない。

我々は、これまでに、オキサリプラチンによる冷アロディニアに対してシンバスタチンが緩和作用を持つことを明らかにしている。また、シンバスタチンの投与により、脊髄後根神経節(DRG)におけるinducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA量の増加や神経細胞におけるSignal Transducers and Activator of Transcription 3 (STAT3)のリン酸化体の発現量の増加が抑制されることも明らかにしている。そこで、本研究では、iNOSやSTAT3のリン酸化が、オキサリプラチンによる冷アロディニアに関与するかを検討した。

【方法】実験には6~8週齢のICR系雄性マウスを使用し、オキサリプラチン(10mg/kg)を腹腔内に単回投与した。冷痛覚過敏はアセトンテストにより評価した。また、DRGにおけるタンパク質発現は免疫組織化学的方法により評価し、DRGにおけるmRNA量はRT-PCRにより評

価した。

【結果、考察】iNOS阻害薬である1400Wを脊髄クモ膜下腔内に前投与すると、オキサリプラチンにより生じる冷痛覚過敏が抑制された。また、STAT3阻害薬であるStatticによっても同様に抑制が見られた。これらの結果より、オキサリプラチンによる冷アロディニアにはDRGにおけるiNOSの発現上昇及びSTAT3のリン酸化亢進が関与し、シンバスタチンはこれらを阻害することで冷アロディニアの抑制作用を示すことが示唆された。現在、iNOS発現と神経細胞でのSTAT3リン酸化に関与があるのかを、免疫組織化学及びRT-PCRで検討を行っている。

B-16

オキサリプラチン誘発末梢神経障害の予防薬探索を目的としたドラッグリポジショニング研究 —医療ビッグデータ・遺伝子発現データベースを活用した検討—

○新村 貴博¹⁾、座間味 義人^{1,2)}、川尻 雄大³⁾、牛尾 聡一郎⁴⁾、内田 真美⁵⁾、合田 光寛²⁾、岡田 直人²⁾、萱野 純史²⁾、小山 敏広⁶⁾、今西 正樹²⁾、武智 研志⁷⁾、中馬 真幸⁷⁾、堀ノ内 裕也⁸⁾、石澤 有紀⁸⁾、池田 康将⁸⁾、高取 真吾⁵⁾、川崎 博己⁵⁾、小林 大介³⁾、島添 隆雄³⁾、北村 佳久⁴⁾、千堂 年昭⁴⁾、石澤 啓介^{1,2)}

1) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理 2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 九州大・院薬・臨床育薬、4) 岡山大学病院 薬剤部、5) 松山大・院医歯薬・臨床薬学、6) 岡山大・院医歯薬学総合・臨床薬学、7) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、8) 徳島大・院医歯薬・薬理

【INTRODUCTION】 大腸がんなどの治療に用いられるオキサリプラチンにより高頻度で発現する末梢神経障害 (Oxaliplatin induced peripheral neuropathy : OIPN) は、患者の Quality of life (QOL) を著しく低下させるため、予防薬の開発が喫緊の課題となっている。

近年、臨床現場で使われている既存承認薬の新しい薬効を発見し、別の疾患の治療薬として開発するドラッグリポジショニングという創薬手法が提唱されている。既存承認薬はヒトに対する安全性や薬物動態に関する情報が蓄積されており、迅速に臨床応用することができる。そこで、本研究では、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手法により OIPN に対する予防薬を探索した。加えて、データベース解析により見出された予防薬候補に関しては、神経様分化細胞および OIPN モデルラットを用いて予防効果を検証した。

【METHODS】 まず、OIPN に関与する遺伝子を文献レビューにより同定した。同定した遺伝子に関して、米国 NIH が提供している創薬ツールである LINCS を用いて、オキサリプラチンによって起こる遺伝子発現変化を打ち消す既存承認薬を探索した。さらに、米国 FDA に報告された約 800 万症例の有害事象自発報告データベース (FAERS) を解析し、LINCS 解析

によって見出された薬剤が OIPN の発症にどのように影響を及ぼすかを検討した。FAERS を用いた解析においても有効性が示された薬剤に関しては、ラット副腎褐色細胞腫由来 PC12 細胞を用いて、オキサリプラチン暴露による神経細胞の分化抑制に対する予防効果を評価した。また、OIPN モデルラットを用いて、痛覚過敏反応に対する有効性を評価するために von Frey test を行った。

【RESULTS】 文献レビューにより抽出された遺伝子を用いて LINCS 解析を行った結果、23 種の既存承認薬が抽出された。これらの薬剤に関して、FAERS を用いて OIPN の発症に対する影響を検討したところ、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。次に PC12 細胞を用いた検討によって、既存承認薬 X がオキサリプラチンによって誘発される神経細胞の分化抑制を軽減していることが明らかとなった。また、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。

【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。

B-17

Caffeine による AMPK 活性調節メカニズムの検討

○大西 伶奈、宮本 理人、友川 剛己、竹之熊 和也、土屋 浩一郎

徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

【背景・目的】 これまでの疫学調査により、コーヒーや緑茶の摂取が 2 型糖尿病発症リスクを低くすることから、これらの飲料に含まれる主要成分である Caffeine が糖尿病予防効果を持つ可能性に注目が集まっている。ところで AMPK は糖代謝亢進や脂肪酸酸化亢進、脂質合成低下をもたらすことが知られており、これらの作用から AMPK は糖尿病など様々な代謝性疾患における治療標的として期待されている。そこで我々は Caffeine 投与による代謝状態の変化や AMPK の活性変化の意義、またそのメカニズムを解明することを本研究の目的とした。

【方法】 8 週齢の雄性 ddY マウスを用いて、Caffeine を連日経口投与した。臓器重量測定や OGTT、RT-PCR による遺伝子発現量の測定を行った。

Caffeine を単回脳室内投与し、抱水クロラル麻酔下で骨格筋を摘出した。その後、 $\alpha 1$ アイソフォーム特異的抗体を用いて AMPK 活性測定を行った。さらに、AMPK 活性上昇に対する交感神経系の関与を調べるために、 β 受容体遮断薬プロプラノロールの投与の影響を検討した。

【結果・考察】 Caffeine の連日経口投与により白色脂肪組織重量は減少し、耐糖能が改善した。この時、褐色脂肪組織において PGC-1 α 発現量の増加傾向がみられたため、Caffeine は熱産生に関わる遺伝子発現を制御し、脂肪の分解に寄与している可能性が考えられた。さらに、白色脂肪組織において炎症性アディポサイトカインの産生の低下が認められたため、脂肪組織の炎症の抑制を介したインスリン抵抗性の改善が示唆された。

Caffeine 脳室内投与から 180 分後に、骨格筋において AMPK $\alpha 1$ の活性が増加した。また、その活性増加はプロプラノロールの前処置により抑制された。そのため Caffeine による骨格筋 AMPK の活性化には、中枢-交感神経系アドレナリン β 受容体を介した経路が存在していることが明らかとなった。

したがって、カフェインは中枢作用を介して末梢の AMPK の活性をコントロールすることで、全身のエネルギー代謝を調節している可能性が示唆された。

○近藤 正輝^{1,2)}、今西 正樹²⁾、生藤 来希¹⁾、村井 陽一¹⁾、福島 圭穰³⁾、堀ノ内 裕也⁴⁾、石澤 有紀⁴⁾、合田 光寛²⁾、座間味 義人^{1,2)}、武智 研志⁵⁾、中馬 正幸⁵⁾、池田 康将⁴⁾、藤野 裕道³⁾、土屋 浩一郎⁶⁾、石澤 啓介^{1,2)}

1) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理、2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 徳島大・院医歯薬・生命薬理、

4) 徳島大・院医歯薬・薬理、5) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、6) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

【目的】 Xanthine oxidase (XO) 阻害剤である febuxostat (FEB) は臨床において頻用される高尿酸血症治療薬である。XO は尿酸と同時に過酸化水素を生成させるため酸化ストレスを亢進させるほか、NLRP3を活性化させて炎症に寄与することが報告されている。本研究では、血管リモデリング形成に対してXOが寄与するメカニズムやFEBの効果について明らかにするため、angiotensin II (Ang II) 誘発性血管リモデリングマウスモデルを用いて検討を行った。**【方法】** 血管リモデリングはAng IIを充填した浸透圧ポンプをマウスの皮下に埋め込むことにより惹起させた。FEBは10mg/kg/dayの投与量にて連日経口投与した。血管壁中膜肥厚や血管線維化はEVG染色により評価した。マクロファージの浸潤は抗F4/80抗体および抗XO抗体による蛍光免疫染色により評価した。細胞実験ではラット大動脈血管平滑筋細胞およびマクロファージ細胞(RAW264.7)、マウス胎児線維芽細胞(MEFs)を用い、細胞増殖はMTT法により評価した。各種タンパク発現はウエスタンブロット法により評価した。各種mRNA発現はReal Time-PCRにより評価した。

【結果】 マウスへのAng II投与によって血清中尿酸値は上昇しなかった。Ang IIにより大動脈の血管壁中膜肥厚および血管周囲の線維化が認められたが、FEBは血管中膜肥厚には影響せず血管周囲の線維化を抑制した。Ang

IIによる血管へのマクロファージの浸潤はFEBにより抑制される傾向が認められ、XOはマクロファージに高発現していた。大動脈においてAng IIによりTGF- β 1 mRNA発現は上昇したが、FEB投与によりその上昇は認められなくなった。この結果と合致するようにAng II単独群では大動脈周囲に α -SMA陽性線維芽細胞を認めたが、Ang II+FEB群では認められなかった。細胞培養系においてAng II刺激により上昇した平滑筋細胞増殖活性はFEBの処置により抑制されなかった。FEBの処置はAng II刺激によるERK1/2のリン酸化の亢進に影響しなかった。MEFsにおいてAng II刺激やFEB処置は、TGF β 1 mRNAの発現に影響しなかった。RAW264.7においてAng II刺激によりXO発現と活性の上昇が認められたが、FEB処置によりその上昇は認められなくなった。また、RAW264.7においてFEBの処置は、Ang II刺激によるTGF β 1 mRNA発現上昇を抑制した。

【考察】 以上の結果より、FEBはAng II誘発性血管リモデリングにおける線維化を抑制することが示唆された。この血管線維化抑制作用は、FEBの尿酸合成抑制作用とは独立しており、FEB投与によるマクロファージ浸潤抑制やマクロファージ由来XO活性阻害がそのメカニズムの一つとして考えられる。

ミトコンドリア局在蛋白 p13 遺伝子欠損マウスの表現型変化

○小椋 紗恵¹⁾、井上 直紀¹⁾、新谷 紀人¹⁾、笠井 淳司¹⁾、師田 洋平¹⁾、植野 寛貴¹⁾、橋本 均^{1,2,3,4)}

1) 大阪大・院薬・神経薬理、2) 大阪大・院医・子どものこころの分子統御機構研究センター、

3) 大阪大学データビリティフロンティア機構、4) 大阪大学先導的学際研究機構超次元ライフイメージング研究部門

【背景・目的】 ミトコンドリアはエネルギー産生やアポトーシスなど、多様な細胞機能に関っており、その機能異常は糖尿病や神経変性疾患等の分子病態の一つであることが報告されている。当研究室ではミトコンドリアに局在する蛋白質 p13 が、*in vitro* においてミトコンドリア膜電位や呼吸鎖機能の制御に関与することを見出した。また、膝島特異的な p13 の過剰発現がⅡ型糖尿病病態下で膝β細胞の増殖を亢進させること、全身性の p13 の発現抑制がパーキンソン病病態下で神経保護的に働くことなどを明らかにした。このことから p13 は組織のリモデリングや細胞死制御等に関与すると考えられるが、その生理的意義については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、CRISPR/Cas9 システムにより作製した p13 の全身性欠損マウスの表現型解析を行なった。

【方法】 p13 の exon 1 配列を標的とする2つのガイドRNA と、Cas9 タンパクを共発現するプラスミドをマウス受精卵へ顕微注入して変異個体を作製した。生存率や体重増加の評価には変異個体の交配で得た p13 ヘテロ欠損マウス (HET)、ホモ欠損マウス (KO) と同腹の野生型マウス (WT) を用い、SHIRPA による行動表現型の解析や臓

器重量の評価には WT と KO を用いた。

【結果】 得られた p13 欠損マウスは開始コドン付近にフレームシフト変異が生じており、翻訳蛋白は本来の 113 アミノ酸から 15 アミノ酸へと小さくなっていた。生後直後の生存率を調べたところ、KO はメンデル則に従って生まれていたが (n = 294, WT : HET : KO = 29.3 : 48.6 : 22.1, P = 0.25)、生後2日目までに50%以上の個体が死亡することが明らかとなり、その後の発達においても KO のみ体重増加が不良であった。6週齢時では、白色脂肪組織、精巣、副腎を含む6つの臓器の重量が KO で軽く、上記3つの臓器では組織化学的な形態異常も認められた。また12週齢時で KO は、WT と比較して、すくみ反応の回数が多く、心拍速度の異常を認めた。

【考察】 以上の結果から、p13 は特に生後の成長に不可欠であり、末梢組織の形成等に重要な働きを担う可能性が示された。

オキサリプラチン誘発末梢神経障害のリスク因子：肝機能障害との関係について

○宮本 朋佳^{1,2)}、福山 紘基²⁾、畑中 重克³⁾、富士谷 昌典²⁾、堂本 莉沙¹⁾、関口 富美子¹⁾、小泉 祐一²⁾、川畑 篤史¹⁾

1) 近畿大・薬・病態薬理、2) 生長会府中病院、3) 社会医療法人生長会 府中病院 臨床検査室

【背景・目的】 我々は、化学療法誘発性末梢神経障害 (CIPN) の発症に damage-associated molecular patterns の1つである high mobility group box 1 (HMGB1) が関与することを証明している。また、肝障害治療薬グリチルリチンが HMGB1 を直接不活性化すること、飲酒やウイルス感染に伴って肝細胞から分泌される HMGB1 が肝障害 (線維化を含む) に関与することが報告されている。臨床的には、CIPN を高頻度で誘発する抗がん剤オキサリプラチン (OHP) は、腎排泄型であるため肝障害患者にも投与されるが、線維性肝変性 (類洞閉塞症候群) を誘起することがある。今回は、OHP 治療を受けたがん患者における CIPN の発症・重症化と肝機能との関係をレトロスペクティブに解析し、さらにマウスにおける OHP 誘起 CIPN への肝障害の影響を検討した。

【方法】 2014年4月～2018年3月に生長会府中病院の外化学療法室で OHP を投与した患者 150 人の情報を電子カルテより収集し、CIPN の重症度 (grade 0-4) に影響する因子を解析した。連続変数は基準値、中央値あるいは Receiver Operating Characteristic analysis で算出したカットオフ値を用いて2値変数に変換し、フィッシャーの

正確確率検定、多変量ロジスティック回帰分析、cox 回帰比例ハザード分析を行った。マウス CIPN モデルは OHP 単回腹腔内投与により作製し、肝障害は CCl₄ 腹腔内投与により誘起した。

【結果】 OHP により grade 2 以上の CIPN を発症する割合はグリチルリチン投与患者の方が非投与患者よりも多かった。CIPN 重症度と各連続変数の関係を解析した結果、ALT との間に有意な正の相関が認められた。ALT 37 U/L 以上であることは Grade 2 以上の CIPN に対して独立して有意に寄与する因子であり (odds 比 2.53)、grade 2 以上の CIPN を時間依存性に誘起するリスクも有意に増加していた (hazard 比 2.08)。一方、CCl₄ で肝障害を誘発したマウスでは、より低用量の OHP で CIPN を発症した。

【考察】 OHP 投与患者において ALT の高値が CIPN の増悪因子であること、マウスにおいて肝障害が OHP による CIPN を増強することが示唆された。

がん悪液質モデルに見られる骨格筋萎縮に対する人參養栄湯の効果

○大澤 匡弘、丸岡 純也、稲波 千尋、岩城 杏奈、石倉 啓一郎、村上 友康
名古屋市立大・院薬・神経薬理

【目的】がん悪液質は、がんの進行にともない出現する栄養不良の状態であり、骨格筋の著しい萎縮が特徴である。筋肉の萎縮はタンパク質分解と合成のバランスが不均衡になるためであるとされるが、その詳細な機構は不明であり、改善法は今のところない。基礎および臨床研究の結果から、骨格筋の萎縮にはインスリンシグナルの減弱や mTOR シグナルを介するタンパク質合成系の減弱が関与する可能性が示されている。そこで、がん悪液質モデルを作製し、骨格筋タンパク質の合成系ならびに抑制系の変化について解析を行い、がん悪液質の際にみられる骨格筋機能の変化に対する人參養栄湯の効果を検討した。

【方法】がん悪液質の誘発は、メラノーマ細胞 (B16BF6細胞) を側腹部皮下に接種 (2×10^6 個) して行った。メラノーマ細胞の接種 14 日目に、腓腹筋および精巣上体脂肪組織を摘出した。人參養栄湯 (1g/kg) は 1 日 1 回経口投与した。タンパク質発現量はウェスタンブロット法に従って行った。

【結果】がん細胞 (メラノーマ細胞) を接種したマウスでは、接種後 14 日目に骨格筋細胞のインスリンの情報伝達を抑制する STAT3 タンパク質の活性化型 (リン酸化体) ならびに SOCS3 の発現が上昇していた。また、

mTOR シグナルの下流である 4E-BP1 のリン酸化の低下と、mTOR の機能を抑制する AMP キナーゼの活性化 (リン酸化体の増加) が、がん悪液質マウスの骨格筋 (腓腹筋) で認められた。そこで、がん悪液質マウスに見られた、これら変化に対する人參養栄湯の影響を検討したところ、人參養栄湯 (1g/kg) を 1 日 1 回、14 日間経口摂取させると 4E-BP1 のリン酸化体の低下ならびに AMP キナーゼのリン酸化体の増加が有意に抑制された。さらに、骨格筋を構成するタンパク質であるミオシン重鎖の量は、がん悪液質マウスで減少していたが、人參養栄湯を与えると対照群とほぼ変わらない程度まで回復した。脂肪組織の重量についてもがん悪液質マウスで減少が認められたが、人參養栄湯により上昇が認められた。人參養栄湯の構成生薬のうち、陳皮、甘草、白朮には PPAR γ 活性化作用が認められた。

【考察】これらの結果から、人參養栄湯ががん悪液質に見られる脂肪分解を PPAR γ の活性化により抑制し、骨格筋量を維持している可能性が示された。これらの基礎研究の結果より、人參養栄湯ががんで見られる日常活動性の低下を改善する可能性を秘めた漢方であることが示唆された。

マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $K_{Ca3.1}$ の発現抑制機構

○鬼頭 宏彰¹⁾、森広 晴香²⁾、大矢 進¹⁾
1) 名古屋市立大・院医・薬理、2) 京都薬科大・薬・薬理

【背景・目的】骨組織は、骨形成と骨吸収の動的なバランスにより恒常性が維持されている。ビタミン D (VD) は小腸上皮細胞からの Ca^{2+} 吸収を促進することにより骨量の維持に寄与しているが、マウス前骨芽細胞では VD 直接刺激が細胞増殖抑制作用を示すことが知られている。中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル ($K_{Ca3.1}$) は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇により活性化する K^+ チャネルであり、ストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) を介した細胞内 Ca^{2+} シグナルを制御することで細胞増殖に関与すると考えられる。本研究では、VD 刺激によるマウス前骨芽細胞の細胞増殖抑制における $K_{Ca3.1}$ の役割を明らかにすることを目的とした。

【結果・考察】マウス前骨芽細胞 MC3T3-E1 における $K_{Ca3.1}$ の生理機能を明らかにするために、SOCE に対する $K_{Ca3.1}$ の寄与を検討したところ、 $K_{Ca3.1}$ 阻害薬 TRAM-34 投与により Ca^{2+} 流入が有意に抑制された。また、MC3T3-E1 の細胞増殖能に対する TRAM-34 の効果を検討したところ、培養後 72 時間において有意に細胞生存能が低下した。次に、活性型 VD (Calcitriol) 処置による $K_{Ca3.1}$ 発現変化を検討したところ、Calcitriol の 48 時間処

置によって有意に $K_{Ca3.1}$ 発現が低下した。Calcitriol 処置による $K_{Ca3.1}$ 活性変化を評価するために DCEBIO ($K_{Ca3.1}$ 活性化薬) 誘発性 Ca^{2+} 流入を測定したところ、Calcitriol 処置群において有意に Ca^{2+} 流入が減少したことから、 $K_{Ca3.1}$ の活性低下が示唆された。 $K_{Ca3.1}$ 発現抑制機構を検討したところ、VD 刺激により $K_{Ca3.1}$ 転写制御因子である AP-1、HDAC2 の発現が低下することが明らかとなった。以上の結果より、VD 刺激によるマウス前骨芽細胞の細胞増殖抑制作用には、 $K_{Ca3.1}$ 発現・活性の低下が少なくとも一部関与しており、 Ca^{2+} シグナルの抑制を介して細胞増殖が抑制されることが示唆された。

C 会場

D306

リポソーム化セラミドの抗腫瘍活性：プログラム化ネクロシスの誘導

○北谷 和之¹⁾、張 雪薇²⁾、松田 将也¹⁾、Kester Mark³⁾、八重樫 伸生²⁾、奈邊 健¹⁾

1) 摂南大・薬・生化学、2) 東北大・院医、3) バージニア大・薬理

セラミドはがん細胞に対して細胞障害性を示す生体分子である。この特性を活用したリポソーム化セラミド製剤が抗がん薬候補として開発されている。本研究では、卵巣がん細胞・動物モデルを用いてリポソーム化セラミド製剤の抗腫瘍効果を探査した。その結果、リポソーム化セラミド製剤は卵巣がん細胞に対して強い細胞障害性を示すことが判明した。この細胞障害性にはアポトーシスではなく、プログラム化ネクロシス(ネクロプトーシス)が関与することを見出した。これまでに receptor interacting protein kinases (RIPK) 1/3 - mixed lineage kinase domain like pseudokinase (MLKL) 経路がネクロプトーシス誘導に関与することが知られている。分子遺伝・薬理的アプローチによる解析の結果、リポソーム化セラミド製剤は RIPK1/3 を介さずにネクロプトーシス最終実行分子 MLKL をオリゴマー化・活性化することでネクロプトーシスを誘導することが判明した。さらに、この分子機序の解明を試みたところ、無細胞系においてセラミド分子は MLKL 分子と相互作用することが判明した。また、ヒト卵巣がん担癌マウスにおいて、リポソーム化セラミド製剤の投与は腫瘍形成を有意に抑えた。これらの結果から、リ

ポソーム化セラミドは MLKL を標的としてネクロプトーシスを誘導することで抗腫瘍活性を示すと考えられる。

高ヒスチジン糖タンパク遺伝子欠損マウスにおける妊娠高血圧症候群様表現型の解析

○勅使川原 匡¹⁾、劉 克約¹⁾、兼森 玄¹⁾、和氣 秀徳¹⁾、王 登莉¹⁾、高橋 英夫²⁾、森 秀治³⁾、西堀 正洋¹⁾

1) 岡山大・院医歯薬総合・薬理、2) 近畿大・医・薬理、3) 就実大・薬・応用薬学・生体情報

【背景】妊娠高血圧症候群(HDP)は、胎盤の形成異常による高血圧・血管内皮細胞障害(炎症)を伴った病的状態である。HDPの根本的な治療法・予防法は、未だ確立していない。これまでに我々は、血漿高ヒスチジン糖タンパク(histidine-rich glycoprotein, HRG)が、DAMPsの代表的因子であるHMGB1の血管新生作用を抑制すること、また、好中球の逸脱した活性化を抑制することで、急性炎症における微小血栓形成や血管内皮細胞障害などの臓器不全に進展する病態を改善することを報告した。これらの知見から、HRGは全身性炎症病態の進行を制御する抗炎症因子であると考えられる。また、これらの血液・血管にみられる病態イベントは、周産期の胎盤形成・妊娠の維持においても重要な生理的現象である。近年、ヒト妊婦において血漿HRG量の低下が妊娠高血圧腎症の進展と相関することが報告された。しかし、HDP病態や周産期生理に対するHRGの関与は、その解析が殆どされていない。本研究は、血漿HRGの欠乏が妊娠期の母体と胎児に与える影響を調べるために、HRG遺伝子欠損(HRG KO)マウスの妊娠期表現型を解析した。

【方法】妊娠HRG KOマウス(12~24週齢、胎生18日齢)から、血漿・胎盤・胎児を採取し、炎症や血管新生に関わる各種因子の発現、及び、胎児発達の影響を調べた。

【結果】HRG KOマウスは、野生型マウスと比べて、血中HMGB1濃度が未妊娠期・妊娠期のどちらも高い傾向にあった。妊娠HRG KOマウスは、胎児発育障害と胎盤過形成がみられた。胎盤における炎症因子(IL1 β 、TNF- α)や炎症性血管拡張因子(iNOS)の発現量に変化はなかった。一方、胎盤における血管新生因子(VEGF、PlGF)の発現量の増加、及び、生理的血管拡張因子(eNOS)の発現量の減少がみられた。さらに、妊娠HRG KOマウスは、高血圧症状を呈していた。

【考察】HRG KOマウスは、拮抗因子であるHMGB1の血中増加とともに、妊娠期の胎盤過形成と胎児発育障害、高血圧症状を示した。これらの結果は、病態制御因子であるHRGが、健常妊娠において何らかの生理的機能をもつ可能性を示唆する。妊娠HRG KOマウスは、HRGによって制御される胎盤形成機構に異常を生じるHDP様病態モデルとなる可能性がある。

慢性腎不全関連サルコペニアにおける鉄の関与

○堀ノ内 裕也¹⁾、池田 康将¹⁾、濱野 裕章²⁾、今西 正樹²⁾、福島 圭穰³⁾、武智 研志⁴⁾、宮本 理人⁵⁾、石澤 有紀⁶⁾、座間味 義人^{2,7)}、藤野 裕道³⁾、石澤 啓介^{2,7)}、土屋 浩一郎⁵⁾、玉置 俊晃⁸⁾

1) 徳島大・院医歯薬・薬理、2) 徳島大・病院・薬剤部、3) 徳島大・院医歯薬・生命薬理、

4) 徳島大・病院・臨床試験管理センター、5) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、

6) 徳島大学 AWA サポートセンター、7) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理、8) 阿南共栄病院・阿南中央病院

【背景】慢性腎不全(Chronic Renal Failure: CRF)におけるサルコペニア(骨格筋萎縮)は、患者の生活の質を著しく低下させるのみならず、予後不良に直結する。そのため、CRF 関連サルコペニアの疾患病態の解明と治療法の開発は喫緊の課題であるが、未だ不明な点が多い。鉄は生命維持に必須の微量金属元素であるが、過剰な鉄は Fenton 反応を介して酸化ストレス障害を引き起こす。我々はこれまでに、鉄が腎臓病に関与することや除鉄により肥満・糖尿病の病態が改善することを明らかにした。

【目的】本研究では、CRF 関連サルコペニアにおける鉄の関与について検討した。

【方法】C57BL/6J マウスにアデニンを投与して、CRF モデルマウス(CRF 群)を作製し、vehicle 投与対照群と比較検討した。

【結果】CRF 群では vehicle 投与対照群と比較して、有意に血清クレアチニン値の増加が認められ、腎機能低下が引き起こされていた。CRF 群では体重・骨格筋重量の低下とともに筋特異的 E3 ユビキチンリガーゼである atrogin-1

と MuRF-1 の遺伝子発現の増加が認められ、骨格筋萎縮が引き起こされていた。この CRF 群の骨格筋において、鉄量が増加していることを確認した。CRF 群の骨格筋においては、鉄取り込みタンパク質トランスフェリン受容体と鉄排出輸送体フェロポルチンの発現低下、鉄貯蔵タンパク質フェリチン重鎖とフェリチン軽鎖の発現増加が認められた。また、CRF 群の骨格筋において、酸化ストレス増加が認められた。

【結論】CRF の骨格筋においては、鉄代謝異常により蓄積した鉄が Fenton 反応を介して酸化ストレス障害を引き起こし、サルコペニアに関与している可能性が示唆された。

テトラヒドロピオプテリン欠損マウスは、重篤な持続勃起症を発症する

○一瀬(鷺見)千穂、菅沼 由唯、狩野 泰輝、井平 典子、池本 和久、近藤 一直

藤田医科大・医・薬理

【緒言】テトラヒドロピオプテリン(BH4)は、フェニルアラニン代謝、モノアミンおよび一酸化窒素(NO)の生合成酵素に必須のコファクターである。BH4 生合成の第3段階を触媒するセピアプテリン還元酵素(SPR)の遺伝子ノックアウトマウス($Spr^{-/-}$)は線条体でチロシン水酸化酵素(TH)のタンパク質が減少し、ジストニア様の異常姿勢を示した。またアセチルコリンによる血管弛緩反応が減弱し、不安定な高血圧と徐脈を示した。一方このマウスは重篤な持続勃起症(Priapism)を高率に発症する。今回その機序を明らかにするため、解析をおこなった。

【方法】C57BL6/J-Balb/c バックグラウンドのマウス(4-11 ヶ月齢オス)を使用した。10% 中性緩衝ホルマリン固定後パラフィン切片を作成し、HE 染色を行った。タンパク定量は Bradford 法で行った。モノアミンは、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-電気化学検出器で定量した。プテリジン誘導体は、還元型プテリジンをカラムで分離後 NaNO_2 で酸化し、HPLC-蛍光検出器で定量した。TH、内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)、ホスホジエステラーゼ5型(PDE5A)、神経型 NOS(nNOS)をウェスタンブロットティング法で検出した。NO 代謝物は NO_2/NO_3

assay fluorometric kit (Dojindo) で測定した。

【結果】 $Spr^{-/-}$ マウスの 69.2% (18/26) に Priapism が観察された。 $Spr^{-/-}$ マウス Penis ホモジネート中の BH4 および全ピオプテリン量は、野生型のそれぞれ 0.69%、8.1% に減少し、ノルアドレナリン量は、野生型の 17.4% であった。eNOS、PDE5A、リン酸化型 PDE5A には $Spr^{-/-}$ と野生型で有意差がなかったが、TH のタンパク質量は $Spr^{-/-}$ で大きく減少していた。一方 nNOS のタンパク質量と NO 代謝物は野生型に比べて有意に増加していた。

【考察】陰茎海綿体における NO 産生は勃起を促進し、交感神経は非勃起状態の維持にかかわる。 $Spr^{-/-}$ マウスはモノアミン産生のコファクターとしての BH4 の不足と TH の減少で、交感神経系の入力低下している。一方 nNOS を介する NO の産生は保たれているため、重篤な Priapism を発症すると考えられた。

○中野 大介、Guan Yu、西山 成
香川大・医・薬理

Kidneys with functional nephrons are essential for our life, but the numerous factors could reduce the numbers of nephron day by day. Kidney has ability to adapt its size and function against the nephron loss to maintain total renal function, for example, in both donor and recipient in renal transplantation. However, the factors that regulate this compensation have not been fully clarified yet. Hereby we examined the effects of erythropoietin (EPO)/anemia on the compensatory renal hypertrophy in the mice lacking EPO production. The anemic mice showed similar compensatory renal hypertrophy compared to normoxemic mice at week 1 after unilateral nephrectomy (UNX). However, the compensation was disrupted only in anemic mice at week 4 after UNX. The disruption was accompanied by the sustainable phosphorylation of ribosomal protein S6, a marker of mTOR activation, which had been decreased after successful compensation in the normal mice. In the renal interstitium of anemic mice at week 4 of UNX, the number of cells promoting epo gene transcription (but disable

to produce EPO protein in the mice) was reduced even under the anemia, and the number of α -smooth muscle actin-positive cells was increased, suggesting the trans-differentiation of EPO-producing cells into myofibroblast. These changes were restored by the supplementation of rEPO. In conclusion, anemia does not affect the onset of compensatory renal hypertrophy after UNX, but does disrupt the persistent compensation process.

○東 紘史、新宅 美紀、金城 俊彦、倉本 展行
 摂南大・薬・機能形態

【目的】 内向き整流性カリウムチャネルの一つ ATP 依存性カリウムチャネルは細胞膜だけでなく、ミトコンドリア内膜上においても存在する。ともに膜電位の形成もしくは変動に寄与する。心臓や脳において ATP 依存性カリウムチャネル開口薬が、虚血性障害に対して保護効果を有することが示唆されている。本研究では、ATP 依存性カリウムチャネル開口薬であるミノキシジルによる虚血性神経障害及び興奮性毒性に対する神経保護効果とミトコンドリア膜電位変化との関連性について蛍光指示薬を用いて調査した。

【方法】 C57/BL6 雄性マウス6週齢に対して、脳梗塞モデル動物作成術である中大脳動脈結紮術 (MCAO) を1時間処置した。処置直後、生理食塩水、エグラボン (6 mg/kg) またはミノキシジル (0.5 または 5 mg/kg bw) を静脈内投与した。その24時間後、脳を摘出し、プレグマから前方に2枚、後方に3枚の厚さ1 mm の切片を作成し、2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 染色によって、細胞内呼吸活性を測定した。マウス胎児海馬由来初代培養神経細胞にミトコンドリア膜電位指示薬 3, 3'-dipropylthiadicarbocyanine iodide (DiSC₃(5)) を30分間ローディングし、N-methyl D-aspartic acid (NMDA) 曝露に伴うミトコン

ドリア膜電位変化を測定した。また NMDA 誘発性のカスパーゼ3レベルをウエスタンブロッティング法で、神経細胞死を 3-(4, 5-dimethylthial-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 法を用いて測定した。

【結果と考察】 MCAO はおよそ50% の脳領域を障害したが、ミノキシジルはこれを濃度依存的に有意に減少させた。また、培養神経細胞に対してミノキシジル曝露は、NMDA 誘導性のミトコンドリア脱分極、活性化型カスパーゼ3のレベル増加及び細胞障害作用を有意に減少させた。以上のことから、ミノキシジルは、細胞内カリウムレベルを低下させることで、神経細胞の脆弱性を低下させる可能性が示唆された。

○中島 美衣子、細井 徹、與田 優香理、小澤 光一郎
 広島大・院医歯薬保健・治療薬効

【背景・目的】 アルツハイマー病 (AD) は認知機能障害と記憶力の低下を伴う神経変性疾患である。一方、糖尿病は膵臓β細胞の機能不全によって起こる進行性の疾患である。近年多くの疫学調査で糖尿病患者は AD 発症リスクが高いことが報告されており、この二つの疾患には関連があると考えられているが、その詳細は未だ不明である。本研究では、膵臓β細胞から恒常的に神経保護因子が分泌され、糖尿病患者では膵臓β細胞が疲弊した結果、その神経保護因子の分泌が減少し、AD 発症へとつながっていると仮定した。その仮定を元に、膵臓β細胞から分泌される神経保護因子として、細胞間コミュニケーションの媒体として知られる 50-100nm の膜小胞であるエクソソームが関わっている可能性について検討を行った。

【方法・結果】 膵臓β細胞由来細胞株である Min6細胞の培養上清から分離したエクソソームを神経細胞のモデル細胞である PC12細胞に Aβと共に処置し、LDH 解析によって神経細胞死の程度を検討した。その結果、Min6細胞由来のエクソソームを処置したもので著しく PC12細胞の細胞死が抑制された。さらに、Min6細胞由来エクソソームと UPR 関連因子の関係に着目した。UPR 関連因子であ

る unspliced XBP1 (uXBP1) は小胞体ストレスセンサータンパク質である IRE1αが活性化することによりスプライシングを受け、活性を持った転写因子である spliced XBP1 (sXBP1) が産生される。sXBP1 は AD 神経細胞死抑制効果を示すことが報告されている。また、膵臓β細胞には sXBP1 が恒常的に発現しているとの報告もあることから、Min6細胞由来のエクソソーム内 sXBP1 について RT-PCR 解析を行った。その結果、エクソソーム内の sXBP1 mRNA 量は細胞中よりも多く存在することが明らかとなり、sXBP1 がエクソソーム内に選択的に取り込まれている可能性が示された。

【考察】 これらの結果より、膵臓β細胞から分泌されたエクソソームには神経細胞死抑制効果があり、糖尿病患者では膵臓β細胞が疲弊した結果、神経保護因子の分泌が減少し、AD の発症へとつながっている可能性が示された。さらに、神経保護因子の一つとして sXBP1 が挙げられた。今後の研究により、Min6細胞由来エクソソーム内 sXBP1 の詳細な役割の解明が期待される。

○磯岡 奈未、和田 晃一、古川 智英子、宮崎 育子、浅沼 幹人

岡山大・院医歯薬総合・脳神経機構

【目的】 パーキンソン病 (PD) は中脳黒質のドパミン (DA) 神経の変性、脱落を主病変とし、運動症状 (無動、振戦、姿勢保持障害、筋強剛) や非運動症状 (嗅覚障害、自律神経障害、うつ症状など) を呈する進行性の原因不明の神経変性疾患である。非運動症状は運動症状発症の5~10年前から始まっており、Lewy 小体を伴う神経変性は末梢神経系から中枢神経系に上行していることが報告され、現在 PD は全身病と考えられている。したがって、末梢での神経変性を早期に予防する神経保護薬の開発が期待される。カフェイン酸 (CA)、クロロゲン酸 (CGA) はコーヒーに含まれるポリフェノールで、抗がん作用や抗酸化作用、ラジカル消去作用が報告されている。また疫学調査では、コーヒー飲用習慣は PD 発症リスクを低下させると報告されている。本研究では、ミトコンドリア complex I 阻害剤である農薬ロテノンを慢性皮下投与し作製した PD モデルマウスに、CA, CGA を連日経口投与し、中枢・末梢神経系における CA, CGA の神経保護効果およびアストロサイトにおける抗酸化分子メタロチオネイン (MT) の発現について検討した。さらに、胎生15日齢SDラット胎仔の初代培養細胞を用いて、腸管神経でのロテノンによる神経毒性に対する CA, CGA の保護効果およびアストロ

サイト様グリア細胞における MT 発現について検討した。**【方法・結果】** 雄性8週齢 C57BL/6J マウスにロテノンを浸透圧ミニポンプを用いて4週間慢性皮下投与 (2.5mg/kg/day) し、PD モデルマウスを作製した。ロテノン投与1週間前から投与終了までの5週間、CA (30 mg/kg/day) または CGA (50mg/kg/day) を連日経口投与した。CA, CGA は黒質チロシン水酸化酵素陽性 DA 神経細胞および腸管 Auerbach 神経叢の変性脱落を抑制し、線条体アストロサイトにおける MT 発現を増加させた。さらに、胎生15日齢のSDラット腸管から腸管神経細胞とグリア細胞の共培養系を作製し、CA (10, 25 μ M)、CGA (25 μ M) で24時間前処置し、さらにロテノン (1, 2.5, 5nM) を添加して48時間培養した。CA, CGA はロテノンによる β -tubulin III 陽性神経細胞の減少を有意に抑制した。また、ロテノンは GFAP 陽性アストロサイト様グリア細胞における MT 発現を減少させたが、CA, CGA はこれを抑制した。

【考察】 コーヒー成分 CA, CGA の経口摂取は環境毒誘発 PD 病態の発現を予防しうることが示唆された。また、CA, CGA による神経保護効果にはアストロサイト (様グリア細胞) における MT 発現誘導が関与する可能性が考えられた。

○有福 萌波¹⁾、泉 安彦²⁾、猪瀬 由莉¹⁾、堀内 奈緒子²⁾、立本 愛²⁾、小山 豊²⁾、金子 周司³⁾、久米 利明⁴⁾

1) 京都大・院薬・薬品作用解析、2) 神戸薬科大・薬・薬理、3) 京都大・院薬・生体機能解析、4) 富山大・院医薬・応用薬理

【目的】 パーキンソン病の病態形成にグリア細胞の活性化を伴う神経炎症が関与すると考えられている。近年、抗酸化酵素等の遺伝子発現制御において中心的な役割を担う転写因子 NF-E2-related factor-2 (Nrf2) が炎症緩和に関与することが報告されてきた。我々は以前に、化合物ライブラリーより Nrf2-antioxidant response element (ARE) 経路を活性化する物質として 1-chloro-3-methanesulfinyl-6,7-dihydro-5H-2-benzothiophen-4-one (TPNA10168) を見出した。本研究では、ミクログリアの炎症性活性化に対する TPNA10168 の影響について検討を行った。

【方法】 マウス由来ミクログリア細胞株 BV2 を用い、炎症性活性化の指標として一酸化窒素 (NO) 遊離を Griess 法で測定した。mRNA 発現量は real-time PCR 法を用いて測定した。タンパク質の発現はウェスタンブロット法により検出した。細胞内グルタチオン (GSH) 量は、monochlorobimane を用いて定量した。

【結果】 BV2 細胞におけるインターフェロン γ (IFN γ) 誘発 NO 遊離は、TPNA10168 (1-10 μ M) を同時処置することにより抑制された。また、IFN γ による誘導型 NO 合成酵素

(iNOS) の mRNA 発現上昇も同様に、TPNA10168 を同時処置することにより抑制された。IFN γ 誘発 NO 遊離は、活性酸素除去薬 N-アセチル-L-システイン、および、NADPH オキシダーゼ阻害薬アポシニンにより濃度依存的に抑制された。そこで、Nrf2-ARE 経路の下流で発現誘導されるヘムオキシゲナーゼ1 (HO-1) および γ -グルタミルシステイン合成酵素 (γ -GCS) が TPNA10168 による NO 遊離抑制作用に寄与するか検討した。TPNA10168 は、HO-1 タンパク発現量を上昇させた。しかし、HO-1 阻害薬 tin protoporphyrin IX (SnPP) は TPNA10168 (10 μ M) による iNOS mRNA 発現抑制に影響を及ぼさなかった。また、TPNA10168 は、細胞内 GSH 量を増加させた。しかし、 γ -GCS 阻害薬 butionine sulfoximine (BSO) は TPNA10168 (10 μ M) による NO 遊離抑制作用に拮抗しなかった。

【考察】 以上の結果より、TPNA10168 は IFN γ により惹起されるミクログリアの炎症性活性化を抑制するが、その抗炎症作用に HO-1 および γ -GCS の関与が小さいことが示唆された。

アルツハイマー病特異的小胞輸送障害機構の解明

○金城 那香¹⁾、櫻井 隆²⁾、上原 孝¹⁾、高杉 展正^{1,2)}

1) 岡山大・院医歯薬学総合・薬効解析、2) 順天堂大・医・細胞分子薬理

アルツハイマー病(AD)において蓄積、凝集することが知られているアミロイドβ(Aβ)は、アミロイド前駆体タンパク質(APP)が小胞輸送される過程で、βセクレターゼ、γセクレターゼによる連続的な切断を受け産生される。凝集したAβは神経細胞毒性を発揮することからAD発症機構の中心因子として注目されてきた。しかし、Aβの増加、蓄積の原因となる孤発性AD患者脳の生理機能については不明であった。

近年、初期ADにおいて、Aβ凝集以前に小胞輸送障害が起り、エンドソームの巨大化、蓄積が起きていることが明らかにされている。興味深いことに、この小胞輸送障害はAβではなく、APPがβセクレターゼで切断されることにより産生される代謝物、β-secretase cleaved carboxyl terminal fragment(βCTF)がエンドソームで蓄積することが引き金となっている可能性が報告されている。しかし、エンドソームにおいてβCTFが蓄積する機構、及び小胞輸送を制御する分子機構については未解明な部分が多く残されていた。そこで、我々はAD特異的な小胞輸送障害の解明を目指し、エンドソームにおいてβCTFと特異的に結合する候補因子として、TMEM30Aを見出した。

TMEM30AはP4-ATPaseファミリータンパク質と結合し、リン脂質を細胞質側に輸送し脂質二重膜の非対称性を形成する。この機能はエンドソームにおける、小胞輸送の制御に重要である。

我々はアフリカミドリザル腎臓由来COS-7細胞を用い、TMEM30AがAPPの局在・代謝に影響するかを検討した。その結果、TMEM30AとAPPの共発現により、①βCTFをはじめとするAPP代謝物が蓄積すること、②エンドソームの巨大化、蓄積が起き小胞輸送が障害されることを見出した。さらに、TMEM30AとβCTFの複合体形成により、TMEM30AとP4-ATPaseとの結合が抑制される事が明らかとなり、本来のリピッドフリッパーゼとしての機能に影響を及ぼす可能性が考えられた。これらの結果から、TMEM30AとβCTFの結合が、初期ADにおけるβCTFのエンドソームへの蓄積、及び小胞輸送障害に関与する可能性が示唆された。

今後、さらにTMEM30AとβCTF複合体形成による小胞輸送障害の分子機構について解析することで、孤発性AD発症機構の解明、新規根本治療薬のターゲットの同定につながる事が期待される。

脊髄後角におけるアルコールの感覚伝達への影響について

○山田 彬博^{1,2,3)}、古賀 浩平²⁾、糸 和彦¹⁾、古江 秀昌^{2,3)}、大澤 匡弘¹⁾

1) 名古屋市立大・院薬・神経薬理、2) 兵庫医科大・医、3) 自然科学研究機構 生理学研究所

【目的】 アルコールは、大脳、脳幹、小脳など中枢神経系に広く作用する。その作用は中枢神経系のシナプス伝達により引き起こされるとされていたが、最近の研究から、脊髄前角でのInhibitory Postsynaptic Currents(IPSCs)がアルコールの灌流投与により増加することが明らかになっている。しかし、感覚情報を伝達する脊髄後角では、アルコールがどのように作用するかよくわかっていない。そこで、本研究では、アルコールによる脊髄後角のシナプス伝達への影響と、感覚伝達への影響を検討した。

【方法】 実験動物には、2-6週齢のSDラットとVGAT-Venusラットを用いた。脊髄スライスを用いて、ブライント法ならびに位相差微分干渉顕微鏡を利用し、L4-L6領域の脊髄後角膠様質細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。*In vivo* 標本を用いて、細胞外記録法による後角細胞の活動電位記録を行い、後肢に触刺激や機械刺激を与え、その応答によりWide dynamic range(WDR)神経細胞の同定を行った。

【結果・考察】 脊髄膠様質神経細胞へアルコールを灌流投与すると、自発性IPSCsの頻度が顕著に増加することがブライント法によるパッチクランプ記録により明らかに

なった。しかし、テトロドトキシン(TTX)存在下では、miniature IPSCsの頻度、振幅ともに変化が見られなかった。アルコールによる自発性IPSCs増加のメカニズムを明らかにするため、VGAT-Venusラットの脊髄スライスを用い、Venus蛍光を呈する神経細胞から電流固定法による記録を行った。アルコールを灌流投与したところ、活動電位の発火頻度に顕著な増加が認められた。次に、この抑制性シナプス伝達の増強が感覚伝達に与える影響を検討するため、細胞外記録法を用いて、脊髄後角に存在するWDR神経細胞から記録を行った。後肢にvon Freyフィラメントにより機械的刺激を与えたところ、WDR神経細胞は刺激強度に依存した発火応答を示した。アルコールを脊髄に直接灌流投与すると、フィラメント刺激による神経発火が減少した。特に、刺激後に自発的な発火を呈するWDR神経細胞特有のAfter-discharge発火頻度がアルコールにより有意に減少した。これらのことから、アルコールは脊髄後角GABA神経細胞を興奮させ、WDR神経細胞の発火を抑えることで、感覚伝達を抑制する可能性が示された。

○野田 さゆり、鈴木 良明、山村 寿男、今泉 祐治

名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析

【背景】 気管支喘息は、気道平滑筋 (BSM) の過剰収縮と平滑筋層の肥厚 (リモデリング) により気道狭窄を呈する慢性炎症性疾患である。BSM の異常収縮により発作が起き、それが繰り返されることでリモデリングが進行し、病態が悪化する。従って、BSM の異常収縮を抑制することは、気管支喘息治療及び慢性化の予防において重要である。大コンダクタンス Ca²⁺ 活性化 K⁺ (BK_{Ca}) チャネルは、ポアを形成するαサブユニット (BK_α) と、電位依存性や細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) 感受性を修飾するβサブユニット (BK_β) が各4分子ずつ合して形成される。BK_{Ca} チャネルは気管支平滑筋 (BSM) の拡張因子であり、収縮抑制機構に関与している。近年新たな修飾サブユニットとしてγサブユニット (BKγ1-4) が同定された。BKγはBK_{Ca} チャネルに対して、電位感受性や [Ca²⁺]_i 感受性の亢進、薬物感受性の変化をもたらす。我々は、気管支平滑筋において、BKγ1が高発現していることを見出した。本研究ではBSMにおけるBKγ1の生理機能と病態形成への関与の解明を目指した。

【方法】 発現解析に Real-time PCR 法、Western blotting 法、免疫染色法を用いた。膜電流・膜電位測定には Whole-cell patch clamp 法を用いた。

【結果】 BKγ1によって活性化されるBK_{Ca}電流のみを測定するため、[Ca²⁺]_iが低い条件 (pCa= 8.0) で膜電流を測定した。BKγ1の発現がほとんど検出されなかったマウス大動脈平滑筋細胞では、BK_{Ca}電流は観測されなかったが、マウス気管支平滑筋細胞 (mBSMCs) では顕著なBK_{Ca}電流が観測された。BKγ1のshRNAノックダウンにより、低 [Ca²⁺]_i条件下におけるBK_{Ca}電流は有意に減少し、BK_{Ca}チャネル活性による膜電位の過分極成分も有意に小さくなった。さらに、BKγ1と病態との関連を明らかにするために、気管支喘息モデルマウス (OVAマウス) を作製し、発現解析を行った。結果として、mBSMにおけるBKγ1のmRNAレベルでの発現上昇が示された。さらに、電流測定の結果からOVAマウスのmBSMCsにおいてBK_{Ca}電流が有意に増加していることが明らかになった。

【考察】 BKγ1はBSMに高発現しており、静止時のBK_{Ca}チャネル活性を上昇させることで静止張力を安定化していることが示唆された。また、病態時ではBK_{Ca}チャネル活性がさらに上昇し、その活性変化が病態形成に関与する可能性が考えられる。

○井上 陽加¹⁾、宮本 理人¹⁾、服部 真奈¹⁾、池田 康将²⁾、玉置 俊晃²⁾、土屋 浩一郎¹⁾

1) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、2) 徳島大・院医歯薬・薬理

【背景・目的】 亜硝酸塩は、野菜等に多く含まれる硝酸塩が一部体内で還元を受けて生成するほか一酸化窒素 (NO) の代謝過程で生成し、ヒトの血液・組織中に一定濃度存在することが知られている。これまでに、硝酸塩あるいは亜硝酸塩の投与による体重増加抑制、空腹時血糖減少、インスリン抵抗性改善等が報告されている。また、硝酸塩の投与による脂肪組織の褐色化が報告されているが、本研究では亜硝酸塩による脂肪組織に対する抗肥満的作用の有無を解明するため、褐色化などの検討を行った。

【方法】 5週齢 ddY 系雄性マウスに高脂肪食 (HFD) を3週間負荷し食事誘発性肥満モデルを作製した。8週齢からHFDに加え0.1%亜硝酸塩を飲水させ5週間投与した後、体重、摂餌量、飲水量、各臓器重量を比較した。また、血糖値、血中脂質指標として中性脂肪値を測定し、採取した臓器 (白色脂肪組織 (WAT)、褐色脂肪組織 (BAT)) において、BAT関連遺伝子の測定を行った。次に、マウス脂肪前駆細胞である3T3-L1細胞を用いて、分化中に亜硝酸塩1, 10, 100μMにて刺激し、Day8, 14で回収し、real time PCRによるmRNA量の解析および、oil red O染色を行った。

【結果・考察】 亜硝酸塩の投与により、体重が増加抑制傾向を示し、このときWATの重量が減少した。血糖値、血漿中脂質値は変化を示さなかったが、白色脂肪組織において亜硝酸塩投与によるBAT関連遺伝子であるUCP1、PGC-1α、PRDM16が発現量増加認められたことから、亜硝酸塩投与マウスにおいてWATの褐色化が起こっていることが示唆された。一方、3T3-L1細胞において亜硝酸塩刺激によるPGC-1αの増加が見られたことから亜硝酸塩は脂肪細胞に対して褐色化等の直接的な作用があることが示唆された。このとき、oil red O染色像および、PPARγやaP2の発現量に対する影響が見られなかったことから分化に対しては影響がないと考えられた。これらのことから、亜硝酸塩は脂肪組織に対する褐色化などの抗肥満的な効果を有し、亜硝酸塩投与による糖脂質代謝の改善に寄与していると考えられる。

青黛含有成分による細胞増殖活性の検討

○桂 明里¹⁾、宮本 理人¹⁾、津田 勝範¹⁾、森崎 実友¹⁾、石澤 有紀²⁾、土屋 浩一郎¹⁾

1) 徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学、2) 徳島大・AWA サポートセンター

【背景・目的】 藍は古くから染料としてだけでなく生薬・健康食品として用いられており、近年では藍から作られる“すくも”を錠剤に加工したものが潰瘍性大腸炎の民間治療薬として利用されている。一方で厚生労働省から藍の色素成分からなる青黛(せいたい)の摂取により肺動脈性高圧症が発現した症例が複数存在することが報告された。肺動脈性高圧症の発症・進展には血管平滑筋の増殖も関与することが知られていることから、今回、青黛に含まれるインジゴ、その異性体であるインジルピン、および類似した骨格を持つトリプタンスリンを用い、ヒト肝臓癌由来細胞 HepG2細胞とラット血管平滑筋細胞(RASMC)の増殖に及ぼす影響とその機序を検討した。

【方法】 RASMCと HepG2細胞を用いて、インジルピン、インジゴ、トリプタンスリンで刺激を行い、細胞増殖について MTT アッセイ法を用いて検討した。また、増殖に関わる因子として、肺に高発現している芳香族炭化水素受容体(Aryl hydrocarbon Receptor: AhR)との関連を検討した。

【結果・考察】 MTT アッセイ法の結果、インジルピン、インジゴの刺激において、RASMCの増殖を促進するこ

とが観察された。次にインジルピン、インジゴ、トリプタンスリン刺激による AhR への影響を rt-PCR 法で検討したところ、AhR mRNA 発現量には影響しなかったが、AhR により誘導される CYP1A1 の mRNA 発現量は有意に増加し、その活性はインジルピン>インジゴであった。この増加は AhR の阻害剤 CH-223191 の前処置で抑制され、また、CYP1A1 のウエスタンブロッティングにおいても、同様の結果が得られた。

以上の結果により、藍含有色素成分は細胞増殖作用を有することが明らかとなり、その機序の一つとして AhR が関与することが考えられた。今後、AhR 以外の増殖メカニズムについても検討を進めていきたい。

ナローバンド UVB によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現の抑制

○真田 奈苗¹⁾、水口 博之²⁾、神村 盛一郎³⁾、藤井 達也³⁾、北村 嘉章³⁾、福井 裕行⁴⁾、武田 憲昭³⁾

1) 徳島大・院医歯薬・分子情報薬理、2) 大阪大谷大・薬・薬理、3) 徳島大・院医歯薬・耳鼻咽喉科、

4) 徳島大・院医歯薬・分子難治性疾患【寄附講座】

【背景・目的】 花粉症は日本国民の約30%が罹患する国民病である。治療法として薬物療法、免疫療法、手術療法などがあるが効果は十分でなく、新しい治療法が求められる。現在、308～313nmの波長のUVBを用いたナローバンド(NB)-UVB光療法がアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患治療に保険適用されている。花粉症と皮膚疾患の病態には共通性も多く、花粉症にもNB-UVB光療法が適応可能であると考えられるが、その科学的根拠はない。我々は、花粉症患者においてヒスタミン H₁ 受容体(H1R)遺伝子発現量と鼻症状の重篤性が正に相関することから、H1R遺伝子はアレルギー疾患感受性遺伝子であり、その発現量の抑制により症状が軽減できることを明らかにしてきた。そこで、NB-UVBの抗アレルギー作用を検証するため、NB-UVB発光LEDを用い、HeLa細胞におけるNB-UVBのH1R遺伝子発現量への影響、HeLa細胞におけるH1R遺伝子発現シグナル経路への影響を検討した。

【方法】 310nmのNB-UVB発光LEDを用い、NB-UVB照射のHeLa細胞におけるH1R遺伝子発現亢進への影響をリアルタイム RT-PCR法、細胞障害作用の評価をDNAラダーアッセイ、免疫染色などにより、またH1R遺伝子

発現に関与するシグナル分子への影響をウエスタンブロット法などにより解析した。

【結果・考察】 HeLa細胞において、NB-UVBを200mJ/cm²照射することにより、アポトーシスの誘導や遺伝子変異を起こすことなく、H1R遺伝子発現量を抑制することができ、その抑制は照射量依存的、可逆的であった。このことから、NB-UVB発光LEDを用いたNB-UVB光療法がアレルギー性鼻炎に有効であることが示唆された。また、NB-UVBは、ERKのリン酸化抑制によりH1R遺伝子発現を抑制することが明らかとなった。さらに、詳細な分子機構を明らかにするため、リン酸化タンパク質による網羅解析を行い、候補となるタンパク質を発見した。今後のさらなる解析によりアレルギーに対する新たな創薬ターゲットの発見に繋がると考えられる。

阿波晩茶由来 NFAT シグナル抑制化合物の同定とその標的分子の探索

○西田 浩平¹⁾、水口 博之²⁾、中野 友寛¹⁾、北村 紀子³⁾、内田 勝幸^{3,4)}、神沼 修⁵⁾、藤野 裕道¹⁾、福井 裕行⁶⁾

1) 徳島大・院医歯薬・分子情報薬理、2) 大阪大谷大・薬・薬理、3) (公財) 東京都医学総合研究所、
4) 株式会社 明治研究本部食機能科学研究所、5) 山梨大・総合分析実験セ、
6) 徳島大・院医歯薬・分子難治性疾患【寄附講座】

ヒスタミン H₁ 受容体 (H1R) 遺伝子は、花粉症の疾患感受性遺伝子である。H1R 遺伝子発現は PKC δシグナルを介し、抗ヒスタミン薬は PKC δシグナルを抑制することにより症状を改善する。しかし、抗ヒスタミン薬による H1R 遺伝子発現抑制だけでは症状は完全には改善しないことから、アレルギー性鼻炎の症状発現に PKC δシグナルの他に第2の細胞内シグナルの関与が考えられ、これがカルシニューリン-nuclear factor of activated T-cells (NFAT) シグナルであることを明らかにした。一方、徳島県特産物の阿波晩茶に NFAT シグナル抑制活性を見出し、その有効成分としてピロガロールを同定した。ピロガロールはアレルギーモデルラットにおいて鼻炎症状を軽減し、また、H1R 遺伝子発現を抑制するエピナスチンとの併用により薬物単独投与と比較して顕著な症状改善効果を示した。そこで本研究では、ピロガロールの NFAT シグナル制御の分子機構を明らかにするためピロガロールの標的タンパク質の同定を試みた。

没食子酸をカラムに固定化したピロガロールビーズを用いたアフニティークロマトグラフィーにより、候補タンパク質として Poly (U)-binding-splicing factor 60 (PUF60) を同定した。PUF60は NFATc2-GFP 融合タンパク質との共免疫沈降により、カルシウムイオノフォアであるイオノマイシン刺激により NFATc2 との結合が増強され、ピロガロール処置によりその結合は抑制された。更に CRISPR-Cas9 を用いて RBL-2H3 細胞における PUF60 遺伝子をノックアウトしたところ、NFAT シグナルの下流に存在する IL-9 mRNA の遺伝子発現が有意に抑制された。以上の結果から、PUF60は NFAT シグナルの活性化に関与すること、また、ピロガロールは、PUF60 と結合し PUF60 の NFAT との結合を弱めることにより NFATc2 のカルシニューリンによる脱リン酸化を抑制することが示唆された。

Structural requirement of aromatic amino acid derivatives specifically delivered to cancer cells with avoiding renal accumulation

○金 春¹⁾、魏 玲¹⁾、大垣 隆一¹⁾、富永 英之²⁾、奥田 桀¹⁾、永森 収志^{1,3)}、金井 好克¹⁾

1) 大阪大・院医・生体システム薬理、2) 福島県立医科大 ふくしま国際医療科学センター 先端臨床研究センター、
3) 奈良県立医科大・生体分子不均衡制御学

The transporters specifically expressed in cancer cells can be used for the routes of cancer-specific delivery of chemical compounds. Amino acid transporter LAT1 (L-type amino acid transporter 1) is one of such transporters. Besides its highly cancer specific nature in the expression, LAT1 exhibits broad substrate selectivity accepting variety of side chains of neutral amino acids, which makes LAT1 suitable for the drug delivery tool. We have shown that a-methyl aromatic amino acids are only transported by LAT1 among amino acid transporters. For example, cancer imaging probes, [¹⁸F]FAMT (3-[¹⁸F] fluoro-a-methyl-l-tyrosine) and [¹²³I]IMT (3-[¹²³I]iodo-a-methyl-l-tyrosine) used for PET (positron emission tomography) and SPECT (Single photon emission computed tomography), respectively, are specifically transported into cancer cells by LAT1. a-Methyl aromatic amino acids could also be useful for radionuclide therapy targeting LAT1 if they were modified for a-ray emitting. However, the problem of FAMT and IMT in cancer imaging is in their high renal accumulation. In *in vivo* study, the renal excretion of these compounds was decreased by the administration

of probenecid, suggesting a contribution of organic anion transporter OAT1 in their renal accumulation. In order to reveal critical moieties responsible for a substrate of OAT1 and to design the compounds avoiding renal accumulation, we examined the interaction of aromatic amino acid derivatives with OAT1. By comparing IC₅₀s of FAMT, IMT and their derivatives to inhibit OAT1, and by evaluating their transports in the efflux experiment, we revealed that both halogen and hydroxyl groups on the benzene ring are critical for the interaction with OAT1, whereas the a-methyl moiety essential for the selectivity to LAT1 is not important to interact with OAT1. We also found that the position of hydroxyl group and halogen group on the benzene ring affects the interaction with OAT1, suggesting the importance of hydrophobicity around particular position of the aromatic ring to form a "hydrophobic core", which is essential to be the substrates of OAT-member transporters. The results of this study would be beneficial for designing the tumor-specific imaging probes with less renal background and the targeted radionuclide therapy with less renal damage.

○池畑 拓実、大谷 夏実、高崎 輝恒、佐藤 亮介、杉浦 麗子
近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬

Hsp90 (heat shock protein 90) は高度に保存された分子シャペロンの一種であり、様々なストレスにตอบสนองして発現量が上昇する。Hsp90 は多様なタンパク質のフォールディングに関わるが、そのクライアントタンパク質にはカゼインキナーゼ2や Akt など、がんの hallmarks に含まれる増殖シグナルを司る分子が含まれることから、Hsp90 は抗がん薬の魅力的な標的として注目を集めている。当研究室では、分裂酵母の Cl⁻ ホメオスタシスを利用した遺伝薬理学的手法を確立し、DUSP をはじめとした MAPK シグナル調節因子を多数同定してきた。また、この手法を創薬探索へと応用し、新規 ERK シグナル調節薬 ACA-28 など、抗がん活性を有する化合物の取得に成功している。今回、MAPK シグナルが低下している変異体として新たに Hsp90/*swo1-26* 変異体を同定するとともに、MAPK シグナルを阻害する化合物として Hsp90 阻害薬 geldanamycin を同定した。

そこで Hsp90 による MAPK シグナル調節メカニズムを明らかにするため、Hsp90/*swo1-26* 変異体および Hsp90 阻害薬を用いて Hsp90 の機能低下が MAPK シグナル構成因子に与える影響を解析した。興味深いことに、

Hsp90/*swo1-26* 変異細胞において Pck2 (MAP4K)、Mkh1 (MAP3K)、Pek1 (MAPKK)、Pmk1 (MAPK) の細胞内局在がそれぞれ異常になっていることが明らかとなった。特に ERK ホモログである Pmk1 MAPK は、正常細胞においては細胞質と核に局在するのに対して、Hsp90/*swo1-26* 変異細胞においては Pmk1 MAPK の核局在が激減するのに加え、Pmk1 MAPK の異常な凝集が認められた。一方、正常な Swo1 タンパク質は細胞質と核に局在するのに対して、変異 Swo1 タンパク質においては、細胞質に異常な凝集として観察された。さらに、共免疫沈降法によって Swo1 は MAPK シグナル伝達経路を構成する複数のキナーゼと相互作用することが明らかになった。以上の結果から、Swo1/Hsp90 はマルチキナーゼを標的として、MAPK 経路の構成因子の空間的な制御メカニズムに影響を与える分子シャペロンであることが示唆された。

○藤井 正徳、今堀 翔太、田中 智之
京都薬科大・薬・薬理

痒みはアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis, AD) の主要な症状である。Tacrolimus 軟膏は、AD の治療薬であり、calcineurin を阻害することにより免疫抑制作用を示す。一方、tacrolimus は免疫抑制作用とは独立して痒みを抑える作用があることが示唆されている。本研究では、AD モデルマウスを用いて tacrolimus による痒み抑制作用メカニズムを解析した。HR-1 系ヘアレスマウスに特殊飼料 (HR-AD) を摂食させることにより AD 様皮膚炎を誘導した。0.1% Tacrolimus 含有ワセリン軟膏をマウスの皮膚に塗布したところ、塗布数日後より、自発的搔痒行動ならびに起痒物質 (histamine (His)、SLIGRL および chloroquine (CQ)) 皮内投与による搔痒行動が有意に抑制された。一方、capsaicin 塗布による疼痛行動は tacrolimus 軟膏塗布により何ら影響を受けなかった。次に、知覚神経への影響を検討するため、脊髄後根神経節 (DRG) 細胞をマウスより採取し Ca^{2+} イメージングを行なった。ワセリンのみもしくは tacrolimus 軟膏を塗布した AD マウスより DRG を採取し、各種刺激に対する反応性 (細胞内 Ca^{2+} 増加) を調べたところ、CQ に対する反応性のみが tacrolimus 塗布した群で有意に低下していた。次に、あらかじめ DRG 細胞

を採取し *in vitro* で tacrolimus を処置したところ、His あるいは CQ による Ca^{2+} 流入反応がいずれも有意に抑制された。Tacrolimus は calcineurin を阻害するのに対し、同じマクロライド化合物である rapamycin は calcineurin 阻害作用を有しないことが知られている。そこで、rapamycin を AD マウス由来 DRG 細胞に *in vitro* で処置したところ、tacrolimus と同様に His あるいは CQ による Ca^{2+} 流入反応が抑制された。CQ は知覚神経に発現する Mas 関連 G タンパク質受容体 A3 (MrgprA3) に作用し痒みを起こすこと、また、MrgprA3 発現神経は種々の痒み刺激に応答し痒みに重要な役目を果たすことが最近明らかにされている。今回の結果から、tacrolimus は MrgprA3 発現神経に作用し、痒みを抑える可能性が示唆された。また、そのメカニズムとしては calcineurin 阻害作用ではなく、rapamycin と共通する薬理作用が関与すると考えられた。

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

1) 就実大・薬・応用薬学・生体情報、2) 岡山大・院医歯薬総合・薬理、3) 近畿大・医・薬理

【背景と目的】ラクトフェリンは、哺乳類の乳汁中から見出された鉄結合タンパク質である。この分子は、抗菌活性をもつことが報告されており、母乳を介して新生児における感染防御に寄与していると考えられている。さらに、近年の研究により、成人においてもラクトフェリンが血清中に存在しており、免疫担当細胞を活性化することなどが報告されている。また、過去にラクトフェリンは、終末糖化産物 (AGEs) と結合する分子として同定されている。AGEs は、グルコースをはじめとする糖やその代謝産物と、生体分子との間の非酵素的な反応によって生成する分子である。AGEs もまた免疫担当細胞を活性化することが示されており、慢性炎症疾患などの原因となる可能性が注目されている。過去の報告では、ラクトフェリンと AGEs が結合することにより、ラクトフェリンの抗菌活性が阻害されることが示されている。しかし、この結合が免疫担当細胞に対する作用に与える影響は検討されていない。そこで本研究において我々は、AGEs がラクトフェリンによる免疫担当細胞の活性化に与える影響について検討した。

【方法】免疫担当細胞のモデルとして、RAW264.7 細胞を用いた。この細胞を AGEs とラクトフェリンにより刺激し、

炎症性サイトカインの発現を検討した。また、CRISPR/Cas9 システムにより AGEs の受容体として機能する TLR2, TLR4 および RAGE 遺伝子を破壊した細胞を作製し、同様の検討を行った。

【結果と考察】RAW264.7 細胞を、AGEs とラクトフェリンにより同時に刺激すると、それぞれの分子により個別に刺激した場合は炎症性サイトカインの発現が変化することが示された。また、AGEs の受容体を欠損させた細胞で同様の検討を行ったところ、ラクトフェリンと AGEs の受容体は部分的に重複している可能性が示唆された。今後、さらに詳細な検討を行う必要がある。

○田邊 滉平、タムケオ ディーン、成宮 周
京都大・院医・創薬医学

皮膚は、水分保持や外来病原体侵入に対する防御などのバリア機能を有し、その破綻はドライスキンやアトピー性皮膚炎などの疾患の原因となる。これまでの研究により、皮膚のバリアを構成する重要なタンパク質の一つとして、フィラグリン(FLG)が知られている。FLGは表皮細胞の分化過程において産生され、ケラチンフィラメントの凝集や天然保湿因子として作用し、皮膚バリアに貢献する。このような背景から、本研究はヒト表皮細胞において、皮膚バリア機能に対する作用を検討するため、FLG発現を誘導する因子を同定し、その分子作用機序について解析を行った。

本研究では、まず、正常表皮ヒト角化細胞(NHEK)において高発現しているGタンパク共役受容体(GPCR)をGPCRアレイにより同定し、それらGPCRのアゴニストを用いて、FLG遺伝子発現誘導効果を見た。qRT-PCRによる確認の結果、NHEKにおいて、LPAR1とLPAR5が高発現し、そのアゴニストであるリゾホスファチジン酸(LPA)によってFLG発現が表皮細胞の分化促進を介して強く誘導されることが分かった。次に、LPA受容体やシグナル分子に対する阻害剤、siRNAなどを用いて、LPA

によるFLG発現誘導の分子機構について解析を行った。その結果、LPAによるFLG誘導は、細胞表面上のLPAR1とLPAR5受容体の下流で細胞内Rho-ROCK-SRFシグナル経路の活性化を経ることが明らかとなった。さらに、生理条件下におけるLPAの意義を検討するために、ヒト皮膚3次元培養モデル及びドライスキンモデルマウスの塗布試験を行い、皮膚バリア促進作用を確認した。

以上のことから、LPAは、皮膚バリアの低下を伴うドライスキンやアトピー性皮膚炎などに対する新規治療薬物として有効であることが示唆された。

○稲野辺 厚、倉智 嘉久
大阪大・院医・分子・細胞薬理

G蛋白質制御Kirチャネルは、GPCR刺激依存性に、興奮性細胞の電気的興奮を制御する。近年、同ファミリーメンバーKir3.2、その近縁種Kir3.4で生じたde novo、体細胞変異がそれぞれKeppen-Lubinsky症候群、原発性アルドステロン症を惹起することが報告された。両疾患で見出される変異は、イオン選択性フィルター周辺に位置するアミノ酸に生じ、チャネルのイオン選択性を低下させる。Kir3.2のKOマウスは痙攣誘発薬物に対する高感受性以外の明確な表現型を示さないのに対して、イオン選択性を消失したKir3.2変異を有するマウスは黒質ドーパミン神経の消失と小脳顆粒細胞の移動障害により、運動機能の著しい障害を示す。そのため、Kir3.2の機能障害は上記の遺伝子疾患の分子病因の解決手段として有効であると考えられた。

我々は以前化合物ライブラリーからKir3.2阻害薬として静菌薬プロフラビンと同定した。本薬物は主にチャネルのcentral cavityに結合することでチャネルを阻害したが、この阻害様式や部分構造の化学的性質は、それぞれ従来型のチャネル阻害薬と同様であった。以上の知見は、知識ベースの情報科学的アプローチで従来型のチャネル阻害薬

を探索すれば、チャネル阻害薬候補分子が同定できることを示唆した。しかし、同領域と薬物との結合特異性は一般的に低い。そのため、高い特異性を示す化合物の特定には、従来とは異なる手法が求められた。

まず我々は、高分解能で取得したKir3.2変異体の結晶構造中に見出された非蛋白質性電子密度に着目した。その形に基づいてモデル化合物を特定し、インサイドアウトパッチ法でKir3.2発現細胞の細胞質側に灌流した。すると、当該化合物はチャネル活性を阻害することが判った。次に、当該電子密度の周辺領域に結合する分子を、1.2万種の化合物ライブラリーから*in silico*で探索した。その結果、2つの化合物が特定されたが、その内1つの化合物にKir3.2阻害活性があることが判った。以上の知見から、結晶構造中に観察された非蛋白質性電子密度とその周辺領域は、それぞれKirチャネルの新奇阻害薬と阻害薬結合部位であることを強く示唆された。

**第 134 回日本薬理学会近畿部会
事前登録者名簿**

事前登録者名簿

2018年10月31日現在

○学術評議委員、懇親会参加者

愛知学院大・歯・薬理	○戸刈 彰史		
名古屋市立大・院医・薬理	大矢 進	○鬼頭 宏彰	
名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析	○鈴木 良明	野田 さゆり	
名古屋市立大・院薬・神経薬理	○大澤 匡弘	岩城 杏奈	
名古屋大・院医・医療薬学・病院薬剤部	○山田 清文 浅野 裕樹	○永井 拓	澤幡 雅仁
名古屋大・院創薬科学・細胞薬効解析	○小坂田 文隆	伊藤 ありさ	三澤 幸樹
藤田医科大・医・薬理	○近藤 一直	○一瀬 千穂	菅沼 由唯
名城大・薬・病態解析Ⅰ	○野田 幸裕	高須 光平	
アダプトゲン製薬株式会社・研究開発部	春見 芳輝	武政 薫	
アダプトゲン製薬株式会社・学術顧問	○石川 直久		
岐阜薬科大・薬・薬効解析	森口 真結	矢古宇 智弘	村松 碧海
金沢医科大・薬理	○西尾 眞友		
金沢大・医薬保健域・薬・薬理	○金田 勝幸	出山 諭司	笹瀬 人暉
立命館大・薬・病態薬理	○天ヶ瀬 紀久子		
京都大・病院・薬剤部	荻原 孝史	小柳 円花	清水 佑美
京都大・院医・創薬医	田邊 滉平		
京都大・院薬・生体機能解析	○金子 周司 抱 将史	○白川 久志 矢野 佑一	永安 一樹
京都大・院薬・薬品作用解析	有福 萌波		
京都府立医科大・院・医・病態分子薬理	○矢部 千尋	○岩田 和実	○衣斐 督和
京都薬科大・薬理	○藤井 正徳		
京都薬品工業株式会社	○三池 知紘	○北尾 達哉	
三重大・院医・統合薬理	○西村 有平		
鈴鹿医療科学大・薬・薬理	○樋口 善博		
奈良県立医科大・薬理	○吉栖 正典		
和歌山県立医科大	○赤池 昭紀		
和歌山県立医科大・医・薬理	○岸岡 史郎	○木口 倫一	○雑賀 史浩
大阪市立大・院医・分子病態薬理	○富田 修平		
大阪大・院医・生体システム薬理	○金井 好克 金 春灸	○大垣 隆一	奥田 傑

大阪大・院薬・臨床薬効解析	○藤尾 慈		
大阪大・院医・分子・細胞薬理	○稲野辺 厚		
大阪大・医・子どものこころの分子統御機構研究センター	○早田 敦子		
大阪大・院歯・薬理	○田熊 一敬	佐藤 桂子	
大阪大・院薬・神経薬理	○新谷 紀人	小椋 紗恵	
大阪大・院薬・薬剤	○吾郷 由希夫		
国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所	○今井 由美子		
大阪大谷大・薬・薬理	○水口 博之	道永 昌太郎	
大阪薬科大・薬品作用解析	○大野 行弘		
近畿大・医・薬理	○高橋 英夫	○西中 崇	山崎 由衣
近畿大・薬・病態薬理	○川畑 篤史 宮本 朋佳 小池 寧々	○関口 富美子 堂本 莉紗	○坪田 真帆 林 佑亮
近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬	池畑 拓実		
摂南大・薬・薬理	○荻田 喜代一	○米山 雅紀	○山口 太郎
摂南大・薬・複合薬物解析	○荒木 良太		
摂南大・薬・薬効薬理	○奈邊 健 松田 将也	東 紘史	北谷 和之
摂南大・薬・薬物治療	○前田 定秋 柴垣 郁弥	○吉岡 靖啓	石丸 侑希
摂南大・学長室企画課	○喜多 大三		
(株)ペプチド研究所	○渡辺 卓司		
神戸薬科大・薬理	○小山 豊		
神戸学院大・薬・臨床薬学	○徳山 尚吾 松浦 涉	○中本 賀寿夫	相澤 風花
神戸大・院医・薬理	○古屋敷 智之 谷口 将之	○北岡 志保	永井 裕崇
武庫川女子大・薬・薬理 I	○中村 一基		
兵庫医科大	山田 彬博		
岡山大・院医歯薬学総合・脳神経機構	○浅沼 幹人 磯岡 奈未	○宮崎 育子	菊岡 亮
岡山大・院医歯薬総合・薬理	○西堀 正洋	○勅使川原 匡	兼森 玄
岡山大・院医歯薬総合・薬効解析	金城 那香		
岡山理科大・理・臨床生命	大塚 青海	三島 脩太	

川崎医科大・薬理	○岡本 安雄		
就実大・薬・医療薬学・生体情報	○森 秀治		
就実大・薬・医療薬学・応用薬学・生体情報	渡邊 政博		
広島大・院医歯薬保健・薬効解析学	○森岡 徳光	中村 庸輝	近藤 峻
広島大・院医歯薬保健・治療薬効	○小澤 光一郎	○細井 徹	中島 美衣子
広島大・院医歯薬保健・神経薬理	○酒井 規雄	○田中 茂	原田 佳奈
広島国際大・薬・神経薬理	○石原 熊寿		
広島国際大・薬・分子細胞薬理	神垣 真由美		
福山大・薬・薬理	○田村 豊	○渡邊 正知	
徳島大・院医歯薬・分子難治性疾患【寄附講座】	○福井 裕行		
徳島大・院医歯薬・薬理	○池田 康将	○堀ノ内 裕也	
徳島大・院医歯薬・臨床薬理	○合田 光寛	新村 貴博	近藤 正輝
徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学	井上 陽加	桂 明里	大西 伶奈
徳島大・院医歯薬・分子情報薬理	西田 浩平	真田 奈苗	
徳島文理大・薬・薬理	○喜多 紗斗美		
香川大・医・薬理	○西山 成	○中野 大介	
新潟大・脳研・細胞病態	○内田 仁司		
富山大・院薬・神経薬理	○久米 利明		
北海道大・院医・神経薬理	○吉岡 充弘		
日本ケミファ株式会社・創薬研究所 創薬第二研究室	小川 亨		
	小原 ひろみ		

A series of horizontal dashed lines for writing.

謝 辞

セミナー共催

日本ケミファ株式会社

広告・協賛金

アステラス製薬株式会社

EPS 益新株式会社

大阪薬研株式会社

学校法人医学アカデミー薬学ゼミナール

株式会社南江堂

株式会社ブレインサイエンス・アイデア

テルモ株式会社

ファイザー株式会社

まねき食品株式会社

ミドリ安全株式会社

宮野医療器株式会社

ライカマイクロシステムズ株式会社

(50音順 敬称略、2018年11月7日現在)

本学会の開催にあたり、上記企業および団体より多大なご援助をいただきました。
ここに深甚なる感謝の意を表します。

第134回日本薬理学会近畿部会
部会長 徳山 尚吾

第134回日本薬理学会近畿部会
プログラム・要旨集

部会長：徳山 尚吾

事務局：神戸学院大学薬学部 臨床薬学研究室内
中本 賀寿夫
〒650-8586 神戸市中央区港島1-1-3
TEL：078-974-1551（代）
E-mail：kinki134@pharm.kobegakuin.ac.jp

出 版：株式会社セカンド
〒862-0950 熊本市中央区水前寺4-39-11 ヤマウチビル1F
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025
<https://secand.jp/>

