

O-7-1

Theophyllineは卵白アルブミン感作マウスにおけるタバコ主流煙及びallergen曝露誘発気道炎症のステロイド治療感受性を改善させる

木村 元気¹⁾, 上田 敬太郎¹⁾, 西本 裕樹^{1, 2)}, 益子 崇¹⁾, Kazuhiro Ito³⁾,
木澤 靖夫¹⁾

¹⁾ 日本大薬, ²⁾ シミックPMS株式会社, ³⁾ NHLI, Imperial College

【目 的】慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患においてみられるステロイド治療抵抗性に、phosphoinositide-3-kinase (PI3K) - δ の関与が報告されている。また、喫煙などで重症化した喘息患者においても、ステロイド治療に対する感受性の低下が生じており、治療が困難となっている。我々はこれまでに、マウスにおいてタバコ主流煙曝露により誘発させたステロイド治療抵抗性気道炎症が、PI3K- δ を阻害するtheophyllineとステロイド抗炎症薬を併用することで抑制されることを報告している。そこで、本研究では、卵白アルブミン (OVA) 感作マウスにタバコ主流煙とOVAを曝露させて誘発させたステロイド治療抵抗性気道炎症におけるtheophyllineの効果について検討した。

【方 法】OVA感作マウスに、タバコ主流煙は11日間連続、OVAは隔日曝露させた後、fluticasone propionate (FP) 及びtheophyllineを経鼻投与し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取した。BALF中のneutrophil及びeosinophilはflow cytometry法で、CXCL1、IL-17及びIL-33量はELISA法で計測した。

【結 果】OVA感作マウスにおいて、タバコ主流煙及びOVA曝露によりBALF中のneutrophil及びeosinophilは有意に増加し、FP単独投与によっては抑制されなかった。また、theophylline単独投与でも抑制効果はみられなかったのに対し、FPとの併用により、炎症細胞数の増加は有意に抑制された。BALF中におけるCXCL-1、IL-17及びIL-33量の上昇も、FPとtheophyllineの併用により有意に抑制された。

【考 察】OVA感作マウスにおけるタバコ主流煙及びallergen曝露誘発ステロイド治療抵抗性気道炎症には、ステロイド抗炎症薬とtheophyllineの併用が有効である可能性が示唆された。

O-7-2

腎尿酸排泄低下型マウスの創製とCa拮抗薬およびロサルタンによる尿酸降下作用の検討

大野 雄太^{1, 2}、堀 貴行^{3, 4}、大塚 裕介^{1, 5}、大谷 直由³、大内 基司³、
伊藤 善規²、安西 尚彦¹

¹千葉大学大学院医学研究院 薬理学、²岐阜大学医学部附属病院 薬剤部、³獨協医科大学 医学部 薬理学、⁴獨協医科大学 医学部 心臓・血管外科学、⁵日本医科大学 腎臓内科学

【目的】尿酸が生活習慣病と密接につながり、心血管疾患合併との関連が言われている。しかし、ヒトとそれ以外の動物では尿酸代謝に種差があり、高尿酸血症のよい動物モデルが無い事が尿酸研究進展の障害となっている。オキソニン酸投与マウスモデルは尿酸産生過剰型のモデルであり、ヒト高尿酸血症の約9割に見られる腎尿酸排泄低下型のモデルとはなり得ない。そこでピラジナミド (PZA) を用い腎尿酸排泄低下型マウスの創製を試み、過去に *in vitro* で、カルシウム (Ca) 拮抗薬およびURAT1を介した尿酸の取り込みを抑制することを報告しており、このモデルマウスにてCa拮抗薬の尿酸降下作用の検討を行った。また、臨床上尿酸降下作用が報告されているアンジオテンシン受領体拮抗薬 (ARB) のロサルタン (LO) についても同様に検討を行った。【方法】1) : ICR雄10週齢マウスを用い、PZAを400 μ g/g (体重) で投与し、6時間30分後の尿酸排泄率を求めた。2) : 1) のPZA投与30分後にベンズブロマロン (BENZ) を3, 10 μ g/g、ニルバジピン (NV) を1, 3.2 μ g/g、ニトレンジピン (NT) を3.2 μ g/g、ニフェジピン (NF) を3.2 μ g/g、LOを3.2 μ g/gで投与し、BENZもしくは各Ca拮抗薬もしくはLO投与6時間後の尿酸排泄率を求めた。【結果】各n数はcontrol (C) : 8、PZA: 9、BENZ3: 7、BENZ10: 6、NV1: 9、NV3.2: 9、NT3.2: 8、NF3.2: 9、LO3.2: 7で平均尿酸排泄率はC: 13.3、PZA: 1.24、BENZ3: 6.16、BENZ10: 21.27、NV1: 6.45、NV3.2: 7.28、NT3.2: 7.34、NF3.2: 6.84、LO3.2: 10.6であった。平均尿酸排泄率はCに比較してPZAでは有意に低下しており (P=0.006)、またPZAに比較してBENZ3、BENZ10、NV1、NV3.2、NT3.2、NF3.2、LO3.2で優位に高かった (各々P=0.012, 0.016, 0.0003, <0.0001, 0.0009, 0.0032, 0.0046)。【結論】PZA投与により尿酸再吸収を促進し尿酸排泄率を低下させ、腎尿酸排泄低下型高尿酸血症のモデルとして使用可のである可能性を示唆した。本モデルマウスを用いBENZ尿酸排泄促進作用を確認し、Ca拮抗薬であるNV、NT、NFおよびARBであるLOにおいても尿酸排泄促進作用があることが示唆された。

O-7-3

P2受容体は眼房水産生調節を負に制御する

○篠崎陽一¹、武田明子¹、柏木賢治²、小泉修一¹

¹山梨大・院・医・薬理、²山梨大・院・医・眼科

緑内障は全世界において7000万人が罹患する進行性の視神経症で、中途失明原因第2位の疾患である。緑内障の最大のリスクファクターの一つが高眼圧である。種々の眼圧下降薬単剤では十分な眼圧下降効果が得られない事や種々の副作用が生じるなど、眼圧下降作用の新たなターゲットが求められている。今回、我々はP2受容体、特にP2Y₆受容体活性化が眼圧下降作用を有する事を見出したので報告する。P2Y₆受容体の内在性かつ選択的アゴニストUDPの点眼は一過的に眼圧を低下させ、P2Y₆受容体アンタゴニストは眼圧を上昇させた。UDPの眼圧下降作用はP2Y₆受容体欠損 (P2Y₆KO) マウスでは観察されなかった。P2Y₆受容体の発現部位を検討したところ、眼房水産生に関わる毛様体突起の無色素上皮に発現する事が明らかとなった。フルオロフォトメトリー法の変法を用いて前房における眼房水ダイナミクスの解析を行ったところ、UDPの作用はチモロールに類似するがラタノプロストとは作用点が異なる事が明らかとなった。チモロールの作用点が眼房水産生抑制であることからUDPも眼房水産生調節に寄与すると推察された。一方、P2Y₆KOマウスは恒常的に眼房水産生が亢進しており、眼圧は野生型に比べて高値を示した。恒常的な高眼圧は網膜神経節細胞 (RGC) の傷害を誘導すると推察されることから、網膜光断層計 (OCT) を用いた *in vivo* イメージング及び網膜ホルマウント標本の免疫組織化学染色 (IHC) 評価を行った。OCTでは、P2Y₆KOマウスにおいて、特に老化 (≧ 6ヶ月齢) に伴ってRGC細胞層及び内網状層の菲薄化が観察された。IHCでも老化に伴うRGC数の減少が観察された。これらの傷害は長期的に眼圧下降薬を点眼する事で緩和され、高眼圧依存的なメカニズムであることが明らかとなった。以上の結果より、P2Y₆受容体シグナルは眼圧低下作用を示し、その異常は恒常的高眼圧とそれに続く視神経症を引き起こす事が明らかとなった。

O-7-4

クマザサ葉アルカリ抽出液と抗ウイルス剤との相乗作用

○坂上宏¹、福地邦彦²、金本大成³、寺久保繁美³、中島秀喜³、名取威徳⁴、
勝呂・北嶋まどか⁴、大泉浩史⁴、安井利一¹、大泉高明⁴

¹ 明海大学歯学部薬理学、² 昭和大学大学院保健医療学研究科、³ 聖マリアンナ医科大学微生物学、⁴ 大和生物研究所

【緒言】クマザサ葉アルカリ抽出液（ササヘルス、SE）は、第三類医薬品に属する一般用医薬品である。我々はこれまでに、SEの*in vitro*における多様な作用、すなわち抗炎症作用、抗菌作用、卓越した抗ウイルス作用、紫外線に対する細胞保護作用、ビタミンCとの相乗作用、マウス破骨細胞成熟分化抑制作用、さらに臨床での経口摂取による口腔扁平苔癬様異形成症の改善例などにつき報告してきた。今回、SEと各種抗ウイルス剤との併用効果について検討した。【方法】96穴マイクロタイタープレートに、種々の濃度の試験物質とともにHIV感染MT-4細胞（ 3.0×10^4 /well, MOI:0.01）を感染直後に加えた。試験物質のMT-4細胞に対する細胞毒性を測定するために、ウイルス非感染細胞を同様に種々の濃度の試験物質とともに培養した。5日間培養後、MTT法で生存細胞数を測定した。抗ウイルス活性は、HIV感染による細胞傷害から50% protectionする濃度（ EC_{50} ）、細胞毒性は試験物質による50%細胞傷害濃度（ CC_{50} ）でそれぞれ表現した。また、有効係数（Selectivity Index; SI）は CC_{50}/EC_{50} として計算した。薬剤との組合せにつき5枚（5 replicates）のcombination plateを作成し、HIV感染細胞を加えて5日間培養後、MTT法で細胞生存率を算出した。抗HSV-1活性の測定は、Vero細胞を用いたプラーク・アッセイ（300 PFU）及びMTT法（MOI=0.01）を用いた。相乗効果の判定は、MacSynergy II およびcombination index（CI）を用いた。【結果・考察】SEの抗HIV活性（SI=80）は、AZT（SI=22893）、ddT（SI=11898）、curdlan sulfate（SI=10204）、dextran sulfate（SI=47619）よりも、顕著に低かったが、SEは、これらの抗HIV薬と相乗効果を示し、SEとの併用により、抗ウイルス薬の添加量を1/5～1/25まで減少させることができた。同様に、SEはHSV-1によるVero細胞の変性を抑制した。また、新たに開発したMTT法を用いることにより、SEとacyclovirが、相乗的に抗HSV-1活性を発揮することを新たに見出した。【結論】SEと既存の抗ウイルス薬とは相乗効果を示し、併用により、高い経済効果と薬剤耐性出現の回避の可能性が示唆された。