P-3-1

Acetaminophenおよびその代謝産物AM404の 種々のオピオイド受容体作動薬に対する効果の解析 ―新規ラベルフリーCellKey™アッセイシステムを用いて―

松出知子[1,2]，根本悦子[1,2]，横山明信[1]，西村瞳[1]，川合田恵美[1,2]，佐藤汐莉[1,2]，江藤萌子[1]，大栗宝子[1,2]，宮野加奈子[1]，白石成二[1]，平山重人[2]，藤井秀明[2]，上園保仁[1]

[1]国立がん研究センター研・がん患者病態生理 [2]北里大・薬学部・生命薬化学教室

【目　的】Acetaminophen（APAP）は古くから鎮痛薬として頻用されてきた安全性の高い薬であり，その鎮痛作用に代謝産物であるAM404が関与すると考えられている．がん疼痛薬物療法に関するガイドライン（2014）では，がん性疼痛にAPAPと医療用麻薬の併用が推奨されている．医療用麻薬および内因性オピオイドはオピオイド受容体（μOR，δOR，κOR）を活性化することでその作用を発揮する．しかし私たちのこれまでの研究で，APAPならびにAM404はどのオピオイド受容体にも直接作用はないが，両者はfentanyl（FEN）によるμORの活性化を増強すること，さらにAM404はmorphine（MRP）によるδORの活性化を増強することを明らかにした（第68回西南部会（2015），第89回薬理学会年会（2016））．しかし,鎮痛に頻用される弱オピオイドtramadol（TRA）ならびに内因性オピオイドに対する作用は全く不明である．そこで本研究では，内因性オピオイドを含めたオピオイド受容体作動薬のμ，δ，κOR活性に及ぼすAPAP，AM404の効果の網羅的解析を目的とした．【方　法】解析にはCellKey™システムを用いた．これは評価化合物をOR発現細胞に添加することで生じる電気抵抗変化を受容体の活性として評価できる解析方法である．同システムを用い，μOR，δOR，κORを安定発現するHuman Embryonic Kidney 293細胞における各種オピオイド受容体作動薬の作用への，APAPとAM404の効果を解析した．作動薬はMRP，FEN，oxycodone（OXY），TRAの活性代謝産物M1，および内因性オピオイドであるendomorphine-1（EM-1），endomorphine-2（EM-2），β-endorphinを用いた．
【結　果】CellKey™システムを用いたアッセイによりMRP,FEN,OXYに加えTRA，M1の各オピオイド受容体活性に対するAPAPおよびAM404の影響について解析したところ，TRA，M1による活性化作用にAPAP，AM404は影響を与えなかった．さらに，内因性オピオイドであるEM-1，EM-2，β-endorphinによるμ，δ，κOR活性に対し，APAP,AM404は促進作用を示さなかった．【考　察】APAP，AM404は,FENによるμOR活性を増強し,さらにAM404はMRPによるδOR活性を増強した．一方,弱オピオイドであるTRAおよびM1ならびに内因性オピオイドに対してはAPAPもAM404も増強効果を有しないことがわかった．APAP,AM404はある種の医療用麻薬については受容体活性促進効果（PAM（Positive Allosteric Modulator））を有すること，また弱オピオイドや内因性オピオイドには影響を与えないことから，がん疼痛療法において，FENもしくはMRPとAPAPの併用は効果的な疼痛コントロールが期待できる可能性が考えられた．

P-3-2 YIA

オピオイド耐性に関与するオピオイド受容体インターナリゼーションへのAcetaminophenおよびAM404の効果解析 −可視化Halotag®オピオイド受容体を用いて−

○大栗宝子[1,2]、川合田恵美[1,2]、根本悦子[1,2]、石橋尚人[1,2]、大道容子[1,2]、
宮野加奈子[2]、 山川央[3]、平山重人[1]、白石成二[2]、長瀬隆弘[3]、藤井秀明[1]、上園保仁[2]

1.北里大・薬、2.国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、
3.公益財団法人 かずさDNA研究所

【目的】Acetaminophen（APAP）は古くから鎮痛薬として用いられており、代謝産物であるAM404が鎮痛効果を示すと報告されている。がん疼痛の治療には医療用麻薬とAPAPの併用が推奨されているが、APAPおよびAM404のオピオイドOR（μOR、δOR、κOR）への作用は明らかになっていない。これまでの研究でAPAP、AM404ともμ、δ、κOR自身には作用を示さないが、APAPはFentanylによるμORの作用を増強し、AM404はMorphineによるδORならびにFentanylによるμORの作用を増強することがわかった（第68回西南部会(2015)、第89回薬理学会年会（2016））。しかしオピオイド鎮痛耐性に関与すると考えられているORインターナリゼーションへの効果は不明である。本研究ではAPAPおよびAM404が各種医療用麻薬によるORインターナリゼーションに与える影響を、受容体を可視化できるHalotag®融合OR発現細胞を用いて解析することを目的とした。

【方法】HaloTag® を融合させたμOR安定発現HEK293（Human Embryonic Kidney293）細胞を用い、pH感受性HaloTag® Ligandを15分間処置した後、医療用麻薬（Fentanyl、Morphine)、APAP、AM404の単独処置および医療用麻薬とAPAP、AM404との同時処置をそれぞれ行い、蛍光顕微鏡を用いてインターナリゼーションの経時的可視化観察およびその解析を行った。

【結果・考察】Fentanylは単独処置により急峻で持続的なμORインターナリゼーションを惹起した。一方Morphine はそれ自身で緩除な持続的インターナリゼーションを引き起こした。APAPおよびAM404単独ではμORのインターナリゼーションは引き起こさなかった。しかしAPAP、AM404両者ともFentanylとMorphineによるμORインターナリゼーションを増強することがわかった。以上の結果より、APAPおよびAM404はFentanylおよびMorphineによるμORインターナリゼーションを促進し、おそらくμORのPAM（Positive Allosteric Modulator）として作用することで、オピオイド鎮痛耐性にも何らかの影響を与えていることが示唆された。

P-3-3

牡丹皮を介した六味丸のNav1.7チャネル電流抑制作用

塚田　和代[1)]、○片所　真紀[1)]、山内　美輝[1)]、根来 加菜子[1)]、山口　真里奈[1)]、
塩川　真穂[2)]、遠藤　沙希子[2)]、中谷　善彦[1)]、矢作　忠弘[2, 3)]、松﨑　桂一[3)]、
天野　託[1)]

国際医療福祉大・薬・薬治[1)]、国際医療福祉大・薬・薬用資源[2)]、日大・薬・生薬[3)]

電位依存性ナトリウムチャネルは、末梢及び中枢神経での神経細胞の興奮に関与するイオンチャネルである。中でもNav1.7は、慢性疼痛の病態生理における神経細胞の過剰興奮に深く関与しているとされる。近年、牛車腎気丸がオキサリプラチンによる末梢神経障害やパクリタキセルによる末梢神経痛覚過敏に有効であることが報告されており、その効果は牛車腎気丸に含まれる附子末に起因すると考えられている。しかし、附子末以外の生薬において、神経伝導抑制効果や神経細胞の過剰興奮抑制効果の有無についての知見は皆無である。そこで本研究ではNav1.7に着目し、Nav1.7安定化発現HEK293細胞株を用いて、牛車腎気丸に含まれる生薬6種により構成される六味丸、並びに六味丸を構成するそれぞれの生薬について、Nav1.7チャネル電流への影響を電気生理学的に検討した。
六味丸の投与により、Nav1.7チャネルピーク電流の濃度依存的な抑制が認められ、そのIC_{50}は0.23 mg/mLであった。続いて、六味丸を構成する6種類の生薬単独でのNav1.7チャネルピーク電流に対する影響を検討した。その結果、1 mg/mlの各生薬熱水抽出物存在下ではNav1.7チャネルのピーク電流の抑制は見られなかったものの、5 mg/mLでは、牡丹皮のみに抑制作用が認められ、そのIC_{50}は2.65 mg/mLであった。
以上より、六味丸に含まれる牡丹皮によるNav1.7チャネルのピーク電流抑制作用が、牛車腎気丸による末梢神経障害改善効果の一端を担う可能性が示唆された。

P-3-4 YIA

矯正歯科治療に伴う疼痛に対する新規疼痛制御物質の探索

長谷川　尚哉[1]、佐々木　会[1]、土屋　隆子[1]、坂上　宏[2]、安達　一典[2]、須田　直人[1]

1　明海大学歯学部　形態機能成育学講座　歯科矯正学分野、 2　明海大学歯学部　病態診断治療学講座　薬理学分野

【目的】これまで我々は、ラットに負荷した矯正力が、電気刺激で誘発される開口反射誘発閾値（TH）を矯正力負荷1～3日後まで有意に低下させることを報告した。そこで、既存の鎮痛薬ならびにTRPV1受容体拮抗薬（A-889425）の鎮痛効果を歯の移動量と併せて検討した。【材料および方法】Wistar系雄性ラットの上顎両側門歯と上顎右側第一臼歯（M1）間にNi-Tiコイルスプリングを装着し、矯正力を負荷した。その後、Vehicle、アスピリン（25、50、100 mg/kg/day）、アセトアミノフェン（100 mg/kg/day）、A-889425（1.25、2.5、5.0 μmol/kg/day）を腹腔内投与（3回/day）した。矯正力負荷1日後に全身麻酔下のもと筋電図（顎二腹筋）採取用ワイヤーと、電気刺激用電極を両側M1部歯肉に留置した。歯の移動側である右側と対照側である左側M1部刺激時のTHを比較し、各薬物の鎮痛効果を評価した。歯の移動量は、上顎のシリコーン印象から石膏模型を作製し測定した。【結果】Vehicle投与群では、対照側と比較して移動側のTHが有意（$P < 0.05$）に低下した。100 mg/kgのアスピリンの投与、あるいは、5.0 μmol/kgのA-889425の投与は、移動側のTHの低下を有意（$P < 0.05$）に抑制した。アセトアミノフェンの投与は、Vehicle投与群と比較しこのようなTHの低下に影響を与えなかった。矯正力負荷1日後の歯の移動量は、いずれの薬物の投与によっても有意な影響を受けなかった。【考察】本モデルを用いた検討より、歯の移動に伴う疼痛の緩和にはアスピリンが有効であるが、アセトアミノフェンは奏効しない可能性が考えられる。また、A-889425も鎮痛効果を発現したことから、TRPV1受容体が歯の移動に伴う疼痛制御に有効な標的であることが示唆された。シクロオキシゲナーゼならびにTRPV1受容体は破骨細胞活性を制御することが知られてきた。今後は、投与期間を延長し歯の移動量ならびに多核破骨細胞浸潤への影響をさらに検討する必要性がある。

P-3-5 YIA

抗悪性腫瘍薬開発を目指した新規ベンズインドール誘導体による抗グリオーマ作用とその作用機序の検討

○渡邊　有加里[1)]、藤野　恵理[1)]、高橋　詩織[1)]、Nyo Mi SWE[2)]、中谷　善彦[1)]、
渡邊　敏子[2)]、天野　託[1)]

国際医療福祉大・薬・薬治[1)]、国際医療福祉大・薬・創薬有機[2)]

インドール骨格は、天然・合成を問わず多くの生理活性化合物の基本的な構成骨格であり、医薬品を始めとした多くの化合物の存在が知られている。ベンズインドールは、このインドール環とベンゼン環が縮合した化合物であり、インドール環に対して縮合するベンゼン環の位置によりベンズ[e]インドール、ベンズ[f]インドール及びベンズ[g]インドールの3つに区分される。これらの性質については未知の部分が多く、中でも直線型のベンズ[f]インドールに関しての研究報告はほとんど無い。しかし、ベンズ[f]インドール-4,9-ジオールアナログが肺癌由来細胞株の細胞増殖を抑制することやインドール骨格を持つビンブラスチンおよびビンクリスチンが抗悪性腫瘍薬として神経膠腫（グリオーマ）治療に使用されることなどから、ベンズインドール誘導体が抗悪性腫瘍薬のリード化合物に成り得る事が考えられる。
本研究では、直線型のベンズ[f]インドール8誘導体における抗悪性腫瘍効果について、ヒトグリオーマ由来細胞株であるU87MG、T98G、SNB19の三種類を用いて検討を行った。その結果、ベンズ[f]インドール8誘導体のうち、ピロール環部分にBr、インドール環部分にピリジン環が導入された誘導体において、細胞増殖抑制作用が認められた。また、その作用機序について検討したところ、 U87MG においてBcl-2とBaxの発現比に有意差が認められた。これに対し、 T98G、SNB19において差は認められなかった。
以上より、少なくとも U87MG において、ベンズ[f]インドール誘導体がBclファミリータンパク質を介して細胞増殖抑制作用を引き起こした可能性が示唆された。