

The 144th Kinki Branch Meeting in Osaka

第 144 回

日本薬理学会近畿部会

プログラム・要旨集

第 144 回
日本薬理学会近畿部会
プログラム・要旨集

2024 年 3 月 20 日 (水)

大阪

2024 年

大阪



The Japanese Pharmacological Society



第 144 回 日本薬理学会 近畿部会

2024 年 3 月 20 日(水、春分の日)

大阪医科薬科大学 薬学部(阿武山キャンパス)

部会長 大野 行弘

事務局 大阪医科薬科大学 薬学部 薬品作用解析学研究室

〒569-1094 大阪府高槻市奈佐原 4 丁目 20-1

TEL: 072-690-1053, FAX: 072-690-1053

E-mail: p-yakuri@ompu.ac.jp

ご挨拶

謹啓 時下、益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

この度、2024年3月20日(水、春分の日)に、第144回日本薬理学会近畿部会を大阪医科薬科大学 薬学部(阿武山キャンパス)にて開催させていただきます。近畿部会は薬理学会地方部会の中でも歴史と伝統のある、最も身近な学会です。このような伝統ある近畿部会の部会長を務めさせていただくことを大変光栄に存じます。また当日は、令和6年学術評議員会・通常総会、第17回江橋節郎賞及び第39回学術奨励賞の授賞式と受賞講演をハイブリッド形式にて同時開催いたします。ご参加頂く先生方に少しでも有意義な学会となりますよう、準備を進めて参りました。

第144回日本薬理学会近畿部会では、150名を超える現地参加と100名を超えるオンライン参加を頂きました。発表では、学部生・大学院生を対象として優秀発表賞候補26演題を含む57題のお申し込みをいただき、3会場、9セッションにて行うことに致しました。またA会場(講堂)においては、第17回江橋節郎賞の授賞式と受賞講演、令和6年学術評議員会・通常総会ならびに第144回日本薬理学会近畿部会学術評議員会、名誉会員推戴式、第39回学術奨励賞の授賞式と受賞講演をZoom配信を用いたハイブリッド形式にて行います。

人類を脅かしたCOVID-19のパンデミック発生から丸4年が経過し、COVID-19に打ち勝つmRNAワクチンやICTの日常活用など、私たちも多くのニューノーマルを獲得してきました。是非、コロナ禍前の状態に戻り、第144回日本薬理学会近畿部会が活気に満ちた、最新の研究成果を発表し合える場になればと願っております。会員の先生方にはお力添えを賜りますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。

末筆ながら、皆さまの益々のご健勝と研究のご発展をお祈り申し上げます。

謹白

2024年3月吉日

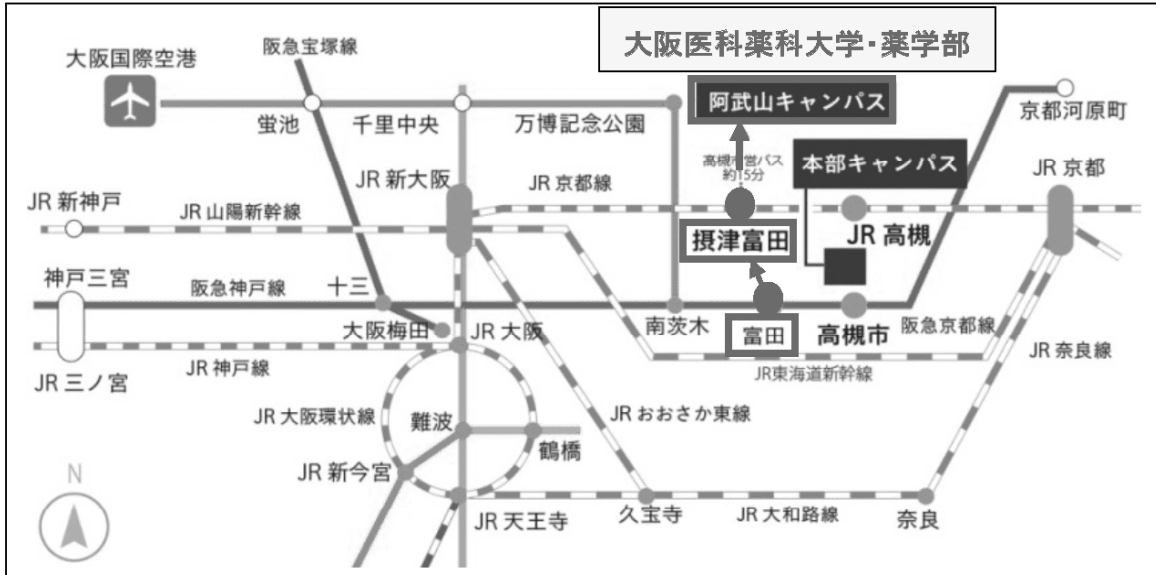
第144回日本薬理学会近畿部会
部会長 大野 行弘

目次

会場・交通案内	iv
会場案内(大阪医科薬科大学 薬学部 阿武山キャンパス)	vi
会場内案内	vii
お知らせとお願い	ix
参加者の方へ	ix
発表者の方へ	x
座長・コメンテーターの先生へ	xii
学術評議員会・通常総会・名誉会員推戴式	xii
江橋節郎賞・学術奨励賞 授賞式及び受賞講演	xii
薬剤師研修センター認定について	xiii
薬理学エデュケーターポイントについて	xiii
第 144 回日本薬理学会近畿部会日程表	xiv
プログラム	1
発表要旨	13
A 会場	13
B 会場	19
C 会場	31
D 会場	43

会場・交通案内

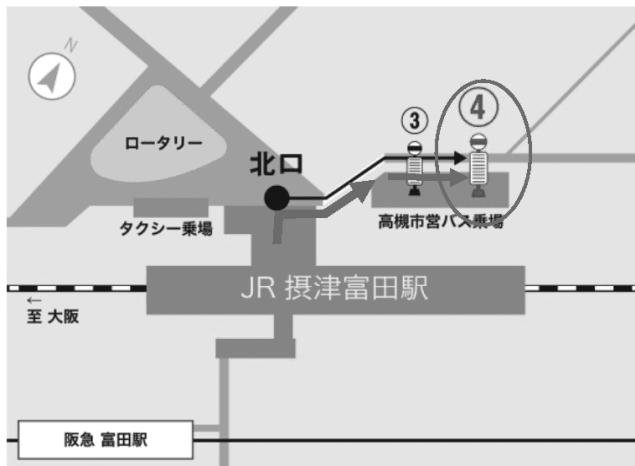
交通アクセス



阪急京都線「富田」駅 → 徒歩 3 分 → JR 京都線「摂津富田」駅 → 高槻市営バス④番乗場

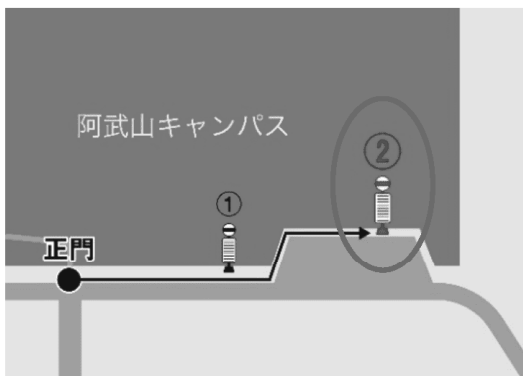
JR「摂津富田」駅の高槻市営バス「JR 富田駅」④番乗場から「大阪医科薬科大学(薬学部)」行又は「公団阿武山」行乗車で「大阪医科薬科大学(薬学部)」下車すぐ。所要時間：約 15 分

・JR 摂津富田駅から会場へ



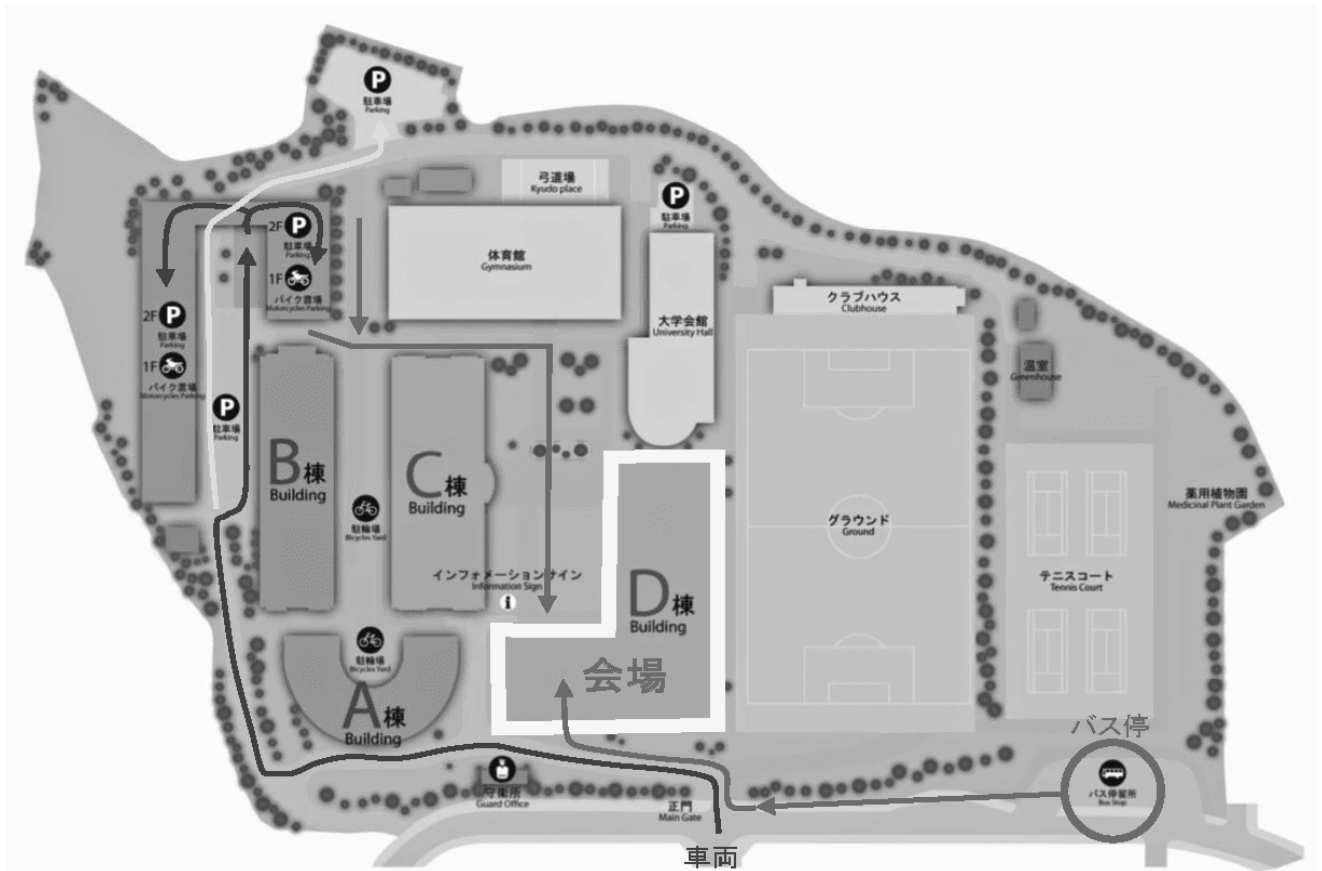
高槻市営バス「JR 富田駅」④番乗場は、JR「摂津富田」駅・北口を出て右側奥のバスターミナルにあります。④番乗場のバスは全て大阪医科薬科大学(薬学部)に停車します。8～9 時、12～13 時の時間帯はバスを増便します。

・会場から JR 摂津富田駅へ



お帰りは、高槻市営バス②番乗場から「JR 富田駅」・「JR 高槻駅北」行きへご乗車ください。全てのバスは「JR 富田駅」に停車します。18～19 時の時間帯は 5～10 分間隔でバスを増便します。

会場案内



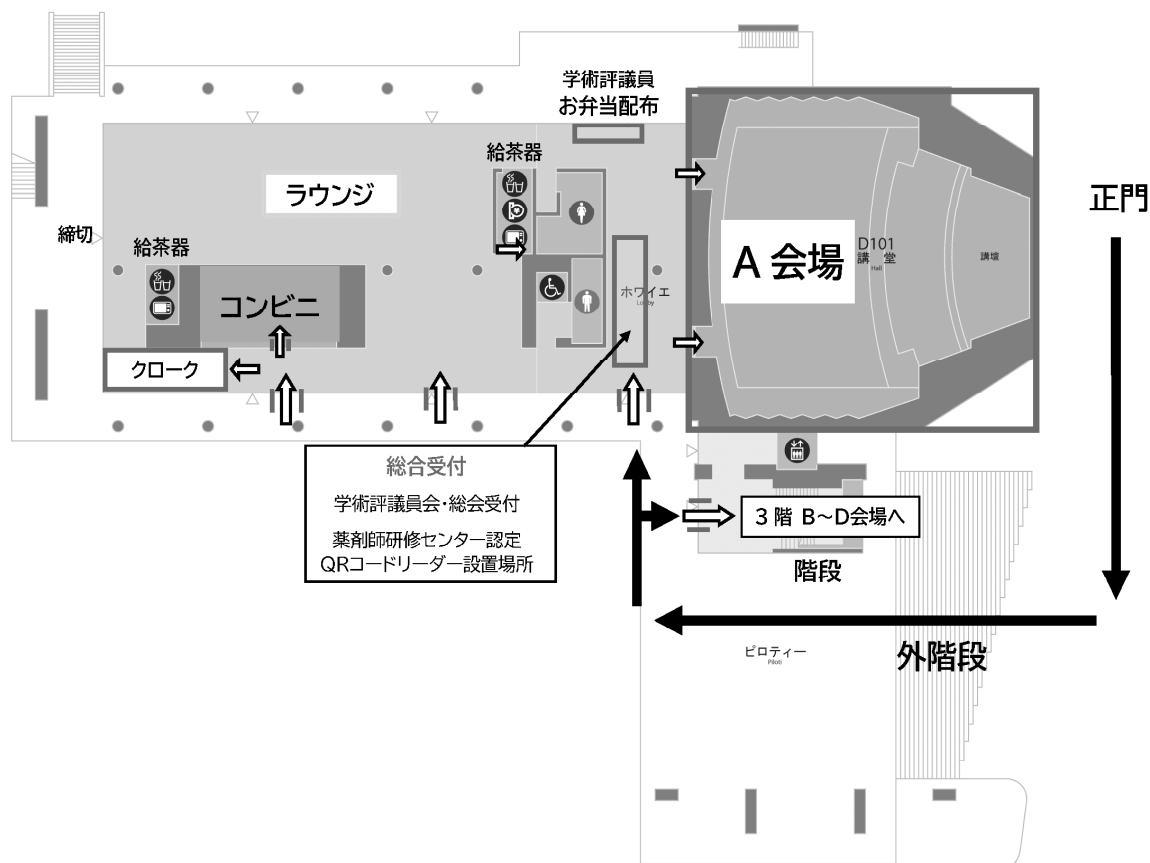
【大阪医科薬科大学・薬学部(阿武山キャンパス)】

会場は「正門」を入った正面の「D棟」です。1階ラウンジの「総合受付」にお越し下さい。キャンパス内の「駐車場」は利用いただけますが、台数に制限(約100台)があります。近隣区域は「駐車禁止」を厳しく取り締まっていますので、駐車しないよう留意ください。なお、キャンパス内は全面禁煙です(喫煙場所はありません)。バス停付近、近隣住宅街も喫煙できませんので、ご協力をお願いいたします。

会場内案内(阿武山キャンパス D 棟)

総合受付、A 会場

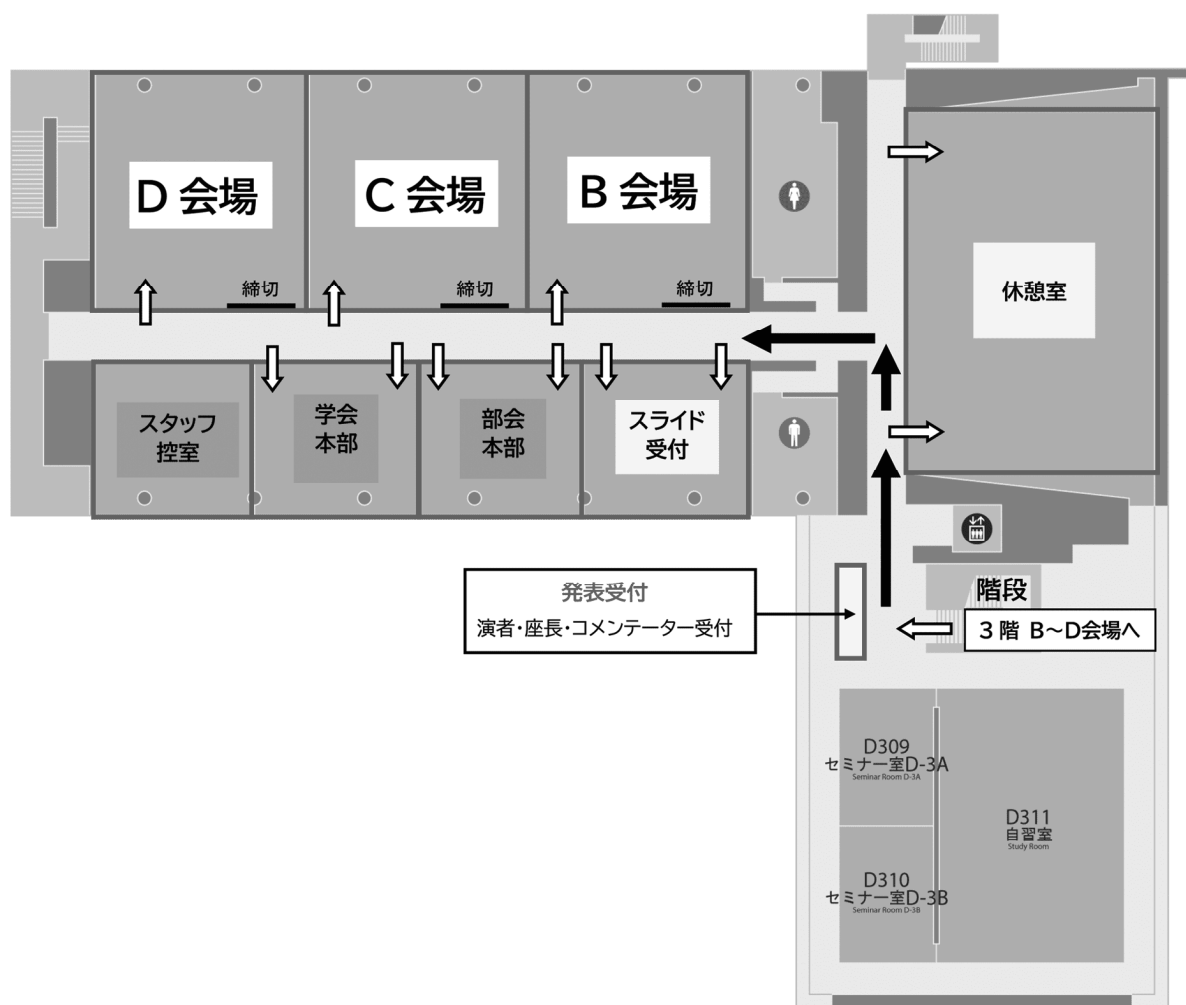
D棟1階



- 学術評議員会/通常総会にご出席の方は「総合受付」にお立ち寄りのうえ、会議資料をお受け取り下さい。
- 学術評議員の先生方には食事券を配布します。学術評議員会/通常総会の終了後、A 会場出口付近にて弁当をお渡しいたしますので、1 階ラウンジにてお召し上がりください (A 会場内は飲食禁止です)。
- コンビニは 10 時～15 時 30 分の間営業しますので、ご利用ください(食堂は閉っております)。
- クロークはコンビニ入口横に8時45分から設置します。貴重品、PC、衣類などはお預かりできませんので、ご注意ください。

演者・座長受付、B～D会場（一般口演）

D棟3階



- 演者/座長/コメンテーターの先生方は「発表受付」にて受付を行ってください。
- 発表スライドは「スライド受付」にて提出した後、動作の確認を行ってください。
- 発表会場内は飲食禁止です。休憩室をご利用ください。

お知らせとお願い

＜参加者の方へ＞

1. 「総合受付」はD棟1階ホワイエ(A会場前)に8時45分から設置いたします。
2. 令和6年日本薬理学会学術評議員会・通常総会に参加される方は「総合受付」にて会議資料をお受け取りください。
3. 学術評議員の先生は「総合受付」にて受付(ご芳名録にサイン)頂き、会議資料と食事券をお受け取りください。
4. 当日参加の方は「総合受付」にて参加費を添えてご登録ください。参加証および要旨集をお渡しいたします。
5. 「発表受付」はD棟3階(エレベーター前ホール)に12時30分から設置いたします。
6. 演者、座長およびコメンテーターの先生は、ご担当いただくセッションの20分前までに、「発表受付」にて受付をお願いいたします。
7. 事前参加登録を済まされ要旨集と名札をお持ちの方で、学術評議員会・通常総会に参加されない方は受付にお立ち寄りいただく必要はございません。
8. 参加証をお忘れの方、紛失された方は「総合受付」にお申し出ください。
9. 会場では参加証をお付けください。「総合受付」及び「発表受付」にてネームタグホルダーを配布しますのでご利用ください。
10. クロークはD棟1階コンビニ入口横に8時45分から設置いたします。ただし、貴重品、PC、衣類などはお預かりできませんので、ご了承ください。
11. 会場内での写真撮影および録音・ビデオ撮影は固くお断りいたします。
12. 大学キャンパス内および近隣地区は喫煙できません。禁煙にご協力ください。

《オンライン参加者の方へ》

1. 令和6年学術評議員会・通常総会、第17回江橋節郎賞、第39回学術奨励賞の授賞式・受賞講演、名誉会員の推戴式は、ハイブリッド形式でZoom配信いたします。
2. 事前に参加登録いただいた方、オンライン参加を希望された方にはZOOMから参加リンクのメールが届きますので、そちらからご参加ください。なお、ZOOMからのメールが迷惑フォルダに振り分けられる場合がございますので、ご注意ください(メールが届かない場合はZOOM担当 info@nml-m.com までご連絡ください)。
3. 視聴中のマイクはミュートをお願いいたします。
4. 撮影、録画および録音は固くお断りいたします。

<発表者の方へ>

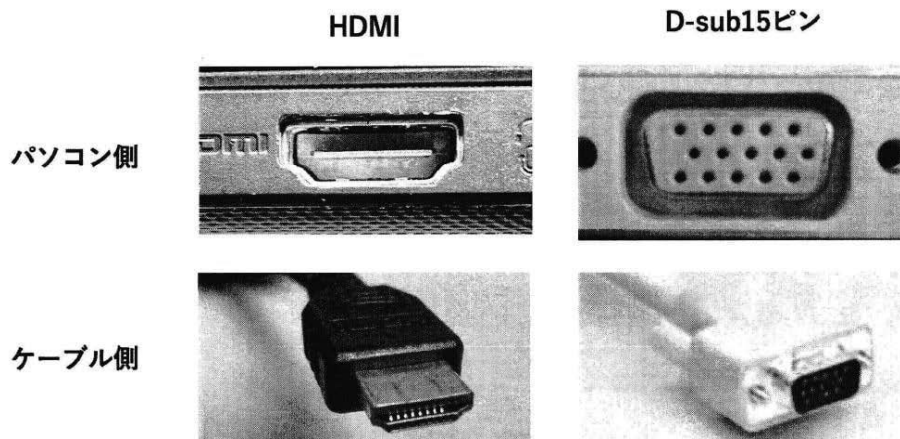
《注意事項》

スライドの 1 枚目に演題登録時にご提出いただいた利益相反(COI に関するスライド)を入れてください。様式は下記 URL の日本薬理学会ホームページからダウンロードしてください。

<https://pharmacol.or.jp/download-page>

《注意事項》

1. 液晶プロジェクターを利用した映写でのプレゼンテーションとなります。
2. 演者用パソコンを各会場に 1 台ご用意いたします。演者用パソコンの OS は Windows10、アプリケーションは PowerPoint(2016)です。
3. 発表セッションの 20 分前までに、D棟3階のスライド受付にデータ(USB)または、ご持参のノートパソコンをお持ちください。
4. データ(USB)をご持参の場合、発表データファイルのファイル名を「演題番号 + 苗字(漢字)」(例:A-1-1-大野.pptx)としてください(外国人の方は Last name:A-1-1-Ohno.pptx)。
5. ノートパソコンをご持参の場合、液晶プロジェクターとの接続は HDMI または D-sub15 ピンです。一部のノートパソコンでは付属のコネクタが必要な場合がありますのでお忘れなくお持ちください。



6. バッテリー切れに備え、必ず電源アダプターをお持ちください。
7. 音声の出力には対応していません。
8. 発表中にスクリーンセーバーや省電力モードにならないように設定してください。

《発表当日について》

1. D棟3階の「スライド受付」にてスライド/PCの受付を行ってください。

スライド受付時間

- 午後1のセッション:12時30分～13時20分
- 午後2のセッション:13時50分～14時50分
- 午後3のセッション:15時10分～16時10分

※上記の時間帯に受付ができない方は、前日までに部会事務局までご連絡ください。

p-yakuri@ompu.ac.jp

※学術奨励賞受賞講演の先生方は、A会場において名誉会員推戴式後にスライドのセットをお願いします。

2. 当日、演者の変更 講演の取り消しがある際には、総合受付、または発表受付にご連絡ください。
3. ご発表セッションの20分前までにD棟3階の「発表受付」にて受付をお済ませになり、「スライド受付」へデータ(USB)またはご持参のノートパソコンをお持ちください。
4. 発表時間は9分、討論時間は3分です。なお、発表準備にかかる時間も発表時間に含まれます。円滑な運営にご協力ください。
5. 発表中は座長の指示に従ってください。
6. ご自身でキーボード・マウスを操作してプレゼンテーションを行ってください。なお、映写スクリーンが複数の会場(B～D会場)もございますので、発表者ツールの赤ポインターやカーソルなどを使用して、PC画面上でのポインター操作をお願いいたします。
7. 発表時間終了1分前と終了時にそれぞれベルでお知らせいたします。発表時間の厳守をお願いいたします。

《優秀発表賞について》

1. 優秀発表賞の受賞者は、後日HP上にて掲載します。

＜座長・コメンテーターの先生へ＞

1. 座長およびコメンテーターの先生は、ご担当いただくセッションの 20 分前までに、D棟3階の「発表受付」にて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。
2. 各セッションの進行は座長に一任いたします。発表時間を厳守し、円滑な運営にご協力ください。
3. 座長とコメンテーターで司会進行と質疑応答を進めていただきます。コメンテーターは会場の参加者と共に、3 分間の質疑応答時間にご質問やご意見をお願いいたします。
4. 優秀発表賞の選考用紙は、各セッションが終わりましたら速やかに進行補助スタッフにご提出ください。

＜学術評議員会・通常総会・名誉会員推戴式＞

1. 令和 6 年学術評議員会・通常総会、近畿部会学術評議員会、名誉会員推戴式を 10 時 40 分からD棟1階「A会場」にてハイブリッド形式で行います。
2. 学術評議員の方は 8 時 45 分より「総合受付」にて受付を済ませ、会議資料と食事券をお受け取り下さい。一般会員の方はご自由にお入りください。
3. オンライン参加を希望される先生方は ZOOM から届いた参加リンクからご参加ください。
4. 名誉会員推戴式の終了後、A会場出口付近にてお弁当とお茶をお配りします。1 階ラウンジあるいは 3 階休憩室にてお召し上がりください（A会場内は飲食禁止です）。
5. 新型コロナウイルス感染症には、各自で十分にご留意ください。

＜江橋節郎賞・学術奨励賞 授賞式及び受賞講演＞

本会開催中に第 17 回江橋節郎賞と第 39 回学術奨励賞の授賞式・受賞講演をハイブリッド形式にて執り行います。ご自由に参加ください。

＜薬剤師研修センター認定について＞

1. 本会は公益財団法人日本薬剤師研修センターの認定学術集会として承認されています。
2. 単位申請は現地参加の方のみ可能で、第 17 回江橋節郎賞・受賞講演(午前 9 時 30 分)から一般口演の最終セッション終了(午後 5 時 42 分)まで、全て聴講された方に 2 単位を付与します(午前のみ、午後をみの聴講では単位は付与されません)。
3. なお、認定受講単位の付与は PECS(薬剤師研修 認定電子システム)にご登録済みの方に限ります。単位を希望される方は、事前に準備をお済ませください。

＜薬理学エデュケーターポイントについて＞

1. 本会では、現地参加の方を対象に薬理学エデュケーター認定制度の参加ポイントを発行します。なお、ポイントの付与は日本薬理学会の会員に限ります。
2. ポイント申請のための QR コードを「総合受付」に掲示しますのでスマートフォンなどで読み取っていただき、申請を行ってください。
3. QR コードが読み取れない方は「総合受付」で配布する申請票に必要事項を記入の上、ご提出ください。

第144回日本薬理学会近畿部会日程表

A会場		B会場		C会場		D会場	
講堂(オンライン配信)		D302		D303		D304	
9:20		9:20					9:20
9:25	開会式	9:25					9:25
9:30		9:30					9:30
10:30	第17回江橋節郎賞 授賞式・受賞講演 座長：赤羽悟美	10:30					10:30
10:40		10:40					10:40
	令和6年学術評議員・ 通常総会 第144回近畿部会 学術評議員会						
12:50	名誉会員推戴式	12:50					12:50
	昼休み						
13:40		13:40		13:40		13:40	13:40
	A-1 第39回学術奨励賞 授賞式・受賞講演 座長：三澤日出巳		B-1 中枢神経① 座長：野田幸裕、石原熊寿 コメンテーター： 野村洋、白川久志		C-1 循環器 座長：西山成、山村寿男 コメンテーター： 高井真司、西谷(中村)友重		D-1 骨・関節・循環器 座長：大喜多守、土屋浩一郎 コメンテーター： 田中智之、木内祐二
14:55		14:55		14:55		14:55	14:55
15:10		15:10		15:10		15:10	15:10
			B-2 中枢神経② 座長：山田清文、酒井規雄 コメンテーター： 金子周司、諫田泰成		C-2 末梢神経・中枢神経 座長：森岡徳光、川畑篤史 コメンテーター： 小泉修一、木口倫一		D-2 がん・シグナル伝達 座長：富田修平、大矢准 コメンテーター： 金井好克、藤野裕道
16:22		16:22		16:22		16:22	16:22
16:30		16:30		16:30		16:30	16:30
			B-3 中枢神経③ 座長：橋本均、古屋敷智之 コメンテーター： 吾郷由希夫、永井拓		C-3 消化器・呼吸器 座長：池田康将、関貴弘 コメンテーター： 人見浩史、東泰孝		D-3 細胞・感覚器・新技術 座長：日比野浩、上山健彦 コメンテーター： 今井由美子、西村有平
17:42		17:42		17:42		17:42	17:42
17:50		17:50		17:50		17:50	17:50
18:00		18:00	閉会式	18:00		18:00	18:00

プログラム

A 会場

9:30-10:30

江橋節郎賞受賞講演

座長：

赤羽 悟美（東邦大・医・生理）



受賞講演 睡眠恒常性におけるカルシウムの役割

○上田 泰己

東大 院医 システムズ薬理学

10：40-12：50

令和6年学術評議員・通常総会
第144回近畿部会学術評議員会
名誉会員推戴式

13:40-14:55

学術奨励賞受賞講演

座長：

三澤 日出巳（慶應義塾大・薬・薬理）



A-1-1

カルシウムマイクロドメインによる血管機能制御機構の解明

13:40

○鈴木 良明

名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析学

A-1-2

情動制御およびストレス抵抗性におけるセロトニン神経の役割に関する研究

14:05

○永安 一樹

京都大・院薬 生体機能解析

A-1-3

プリオン性タンパク質凝集機構の解明と創薬応用に関する薬理学的研究

14:30

○矢吹 悌

熊大・発生研 ゲノム神経

B 会場

13:40-15:04 一般演題（口演） 中枢神経①
座長： 野田 幸裕（名城大・薬・病態解析Ⅰ）
座長： 石原 熊寿（広島国際大・薬・病態薬理）
コメンテーター： 野村 洋（名古屋市立大・院医・認知機能病態）
コメンテーター： 白川 久志（京都大・院薬・生体機能解析）



B-1-1 記憶想起を調節するヒスタミン神経活動動態

13:40



○井筒 蓮太郎¹、森下 良一¹、高村 侑希^{1,2}、西村 京華²、横井 雄斗¹、
人羅（今村）菜津子^{2,3}、南 雅文²、野村 洋^{1,2}

¹名古屋市立大・院医・認知機能病態学、²北海道大・院薬・医療薬学部門 医療薬学分野
薬理学研究室、³熊本大・院生命科学・(薬学系)薬物活性学分野

B-1-2 ヒスタミンH₃受容体逆作動薬/拮抗薬による大脳皮質広域神経活動の調節

13:52



○貝田 千太郎、高村 侑希、平野 匡佑、森下 良一、野村 洋

名古屋市立大・院医・認知機能病態学分野

B-1-3 神経保護的ミクログリアにおけるTLR4の発現量変化とTLR4下流シグナルの検討

14:04

○神垣 真由美、内園 望未、大堂 翔、石原 熊寿

広島国際大・薬・病態薬理学

B-1-4 卵巣摘出マウスへのエリスロポエチン製剤の投与は、血管新生に影響を及ぼすことなく、運動パフォーマンスを向上させる

14:16

○居場 嘉教¹、山田 幸佳¹、佐和田 真一¹、山田 晋太郎¹、山下 葉平¹、石田 善行²、
中田 大介²、寺尾 啓二²

¹摂南大・理工、²(株)シクロケムバイオ

B-1-5 フェンシクリジン連続投与マウスの社会性および認知行動におけるニコチン性アセチルコリン受容体の役割

14:28

○野田 幸裕¹、内田 美月¹、北垣 伸治²、久島 周³、尾崎 紀夫⁴、吉見 陽¹

¹名城大・薬・病態解析Ⅰ、²名城大・薬・薬化学研究室、³名古屋大・医・ゲノム医療セ、⁴
名古屋大・院医・精神疾患病態解明

B-1-6 フルオロクエン酸によるアストロサイトの不活性化がペンチレンテトラゾール誘発けいれんに及ぼす影響

14:40

○國澤 直史、清水 佐紀、大野 行弘

大阪医科薬科大学・薬・薬品作用解析学

B-1-7 アルツハイマー病モデルマウスにおけるミクログリアのカンナビノイド受容体2型を介した神経炎症調節と認知機能改善機序について

14:52

○祖父江 顕^{1,2}、小峯 起¹、遠藤 史人¹、齊藤 祐子³、村山 繁雄^{3,4}、斉藤 貴志^{1,5}、
西道 隆臣⁶、山中 宏二¹

¹名古屋大・環境医学研究所・病態神経科学分野、²名古屋大・環境医学研究所・MIRAIC-未来の医学研究センター、³東京都健康長寿医療セ研・高齢者ブレインバンク、⁴大阪大・大学院連合・子どものこころの分子統御機構研究センター、⁵名古屋市立大・院医・脳神経科学研究所・認知症科学、⁶理研・脳神経科学研究センター・神経老化制御チーム

B 会場

15:10-16:22 一般演題（口演） 中枢神経②
座長： 山田 清文（名古屋大・院医・医療薬学）
座長： 酒井 規雄（広島大・院医・神経薬理）
コメンテーター： 金子 周司（京都大・院薬・生体機能解析）
コメンテーター： 諫田 泰成（国立医薬品食品衛研・薬理部）



B-2-1 プロポフォールによる小胞体の形態変化と細胞内カルシウム動態

15:10



○野口 颯真、和田 花月、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、酒井 規雄
広島大・院医・神経薬理学研究室

B-2-2 神経炎症を伴う認知機能障害に対するKir4.1チャネル阻害薬の作用評価

15:22



○石崎 悠斗、清水 佐紀、田原 拓真、妹尾 帆夏、波部 寛和、武藤 瑠里、大野 行弘
大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

B-2-3 肥満を伴う糖尿病状態のラット脳内におけるオレキシン受容体発現の変動

15:34

○相原 慎和¹、幸田 祐佳¹、松村 人志¹、古川 初花¹、畑 涼子¹、小島 千穂¹、
花本 京香¹、藤岡 央¹、中村 有結¹、田中 早織¹、福石 信之²、加藤 隆児¹
¹大阪医薬大・薬・薬物治療、²金城学院大・薬・薬理

B-2-4 Orexin neurons mediates motivation under reward-based motivative behavior

15:46



○DONG YUTAO¹、溝口 博之^{1,2}、山中 章弘³、山田 清文¹
¹名古屋大・院医・医療薬学講座、²名古屋大・環境医学研究所、³Chinese Institute for Brain Research

B-2-5 妊娠期低酸素曝露はラット大脳皮質内神経の発達に影響を与える

15:58

○徳留 健太郎¹、植木 正明²、本間 拓二郎¹、松永 慎司¹、大野 行弘³、富田 修平¹
¹大阪公立大学・院医・分子病態薬理、²西脇市立西脇病院・麻酔科、³大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

B-2-6 生後発達期ラットの大脳皮質領域における血液脳関門（BBB）形成段階の分類

16:10

○最上（重本）由香里、北村（中山）貴美子、佐藤 薫
国衛研・薬理

B 会場

16:30-17:42

一般演題（口演） 中枢神経③

座長： 橋本 均（大阪大・院薬・薬理）

座長： 古屋敷 智之（神戸大・院医・薬理）

コメンテーター： 吾郷 由希夫（広島大・院医・歯・細胞分子薬理）

コメンテーター： 永井 拓（藤田医科大・精神・神経病態解明セ・神経行動薬理）



B-3-1 マウスの慢性社会ストレスによる行動変化には好中球動員が重要である

16:30



○久末 敏博¹、祝 晴¹、石川 由香¹、加藤 太郎²、石井 慎一³、片山 義雄³、田井中 一貴⁴、山口 勇太¹、篠原 亮太¹、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理、²住友ファーマ、³神大病院・血液内科、⁴新潟大・脳研・システム脳病態学

B-3-2 マウスの慢性ストレスによる骨髄・脾臓での遺伝子発現・細胞組成・脂質メディエーターの変化

16:42



○堀川 伊和¹、永井 裕崇¹、谷口 将之¹、陳 国威¹、篠原 正和^{2,3}、鈴木 知秀⁴、石井 慎一⁴、片山 義雄⁴、北岡 志保⁵、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理学、²神戸大・院医・分子疫学、³神戸大・院医・質量分析総合センター、⁴神戸大・医学部附属病院・血液内科、⁵兵庫医科大・医・薬理学

B-3-3 背側縫線核セロトニン神経の活性化は悲観的な意思決定を改善した

16:54



○野口 拓馬¹、安藤 千紘¹、西谷 直也²、白川 久志¹、金子 周司¹、永安 一樹¹

¹京都大・院薬・生体機能解析学分野、²金沢大・院医薬保健・薬理学研究室

B-3-4 幻覚薬DOIを用いたマウス大脳皮質におけるメゾスケールのカルシウムイメージング

17:06

○新谷 勇介¹、中井 信裕¹、早田 敦子^{2,3,4}、橋本 均^{2,3,5,6,7}、内匠 透¹

¹神戸大・医学研究科・生理学分野、²大阪大・院薬・薬理、³大阪大・院歯・薬理、⁴大阪大・院医・連合小児、⁵大阪大・データビリティフロンティア機構、⁶大阪大・先導的学際研究機構、⁷大阪大・院医・薬理

B-3-5 FADS1/2 遺伝子欠損による双極性障害モデルマウスの表面妥当性と神経機能の評価

17:18

○窪田 悠力¹、Hadler Sristy²、河谷 昌泰²、衣笠 智裕³、周 昕竹¹、張 心健¹、坪井 大輔⁴、毛利 彰宏⁵、吉本 潤一郎³、貝淵 弘三⁴、岩田 伸生⁶、山下 貴之²、永井 拓¹

¹藤田医科大・精神・神経病態解明センター・神経行動薬理学、²藤田医科大・医・生理学II講座、³藤田医科大・医・医用データ科学講座、⁴藤田医科大・医科学研究センター・神経・腫瘍のシグナル解析プロジェクト、⁵藤田医科大・院保健・レギュラトリーサイエンス、⁶藤田医科大・医・精神神経科学

B-3-6 Phosphodiesterase 4D のアロステリック阻害は学習によって活性化されるシグナル経路と関連した記憶亢進作用を示す

17:30

○神尾 航平^{1,2}、宮本 啓補¹、蒲原 智絵¹、畝村 千恵¹、吾郷 由希夫²、堀口 直剛¹

¹塩野義製薬・NS 3G、²広島大・院医（歯）・細胞分子薬理

C 会場

13:40-15:04

一般演題（口演） 循環器

座長： 西山 成（香川大・医・薬理）

座長： 山村 寿男（名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析）

コメンテーター： 高井 真司（大阪医科薬科大・医・薬理）

コメンテーター： 西谷（中村）友重（和歌山県立医科大・医・薬理）



C-1-1

左心性疾患に伴う肺高血圧症モデルマウスにおけるカルシウムシグナルの亢進

13:40

○松本 和幸¹、近藤 るびい¹、鈴木 良明¹、山村 彩²、山村 寿男¹

¹名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析、²愛知医科大・医・生理



C-1-2

可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激薬が虚血性急性腎障害に及ぼす影響

13:52

○村本 聡史、中川 恵輔、杉山 美羽、井上 悠、佐々木 里真、北條 賢太郎、田和 正志、大喜多 守

大阪医科薬科大・薬・病態分子薬理



C-1-3

Roxadustat がラット胸部大動脈の血管緊張調節に及ぼす影響

14:04

○中川 恵輔、大柴 依子、田和 正志、大喜多 守

大阪医科薬科大・薬・病態分子薬理

C-1-4

タバコ煙抽出物（CSE）は、ラットおよびヒトiPSC由来心筋細胞において細胞内Ca²⁺動態異常とミトコンドリア機能障害を介して、収縮・拍動障害および細胞死を誘導する

14:16

○安田 純平、松村 早季子、納富 拓也、陳 以珊、西谷（中村）友重

和歌山県立医科大・医・薬理学講座

C-1-5

希少糖アリトールは生体内で浸透圧活性を有する

14:28

○大藪 公平、Hossain Akram、藤澤 良秀、Rahman Asadur、北田 研人、西山 成

香川大・医・薬理学



C-1-6

慢性血栓塞栓性肺高血圧症におけるhistidine-rich glycoproteinおよびsoluble receptor for advanced glycation end-productsの量的変動

14:40

○出石 恭久^{1,2}、木山 和子²、小川 愛子²、北村 佳久¹、松原 広己^{2,3}

¹就実大・薬・薬物治療学、²岡山医療セ・臨研、³岡山医療セ・循内

C-1-7

一酸化窒素がアデニン腎障害ラットのインドキシル硫酸産生増加におよぼす影響

14:52

○小淵 修平、鄭 慶実、林 優成、山崎 怜奈、上田 晴康

兵庫医科大・薬・薬理

C 会場

15:10-16:22 一般演題（口演）末梢神経・中枢神経
座長： 森岡 徳光（広島大・院医・薬効解析）
座長： 川畑 篤史（近畿大・薬・病態薬理）
コメンテーター： 小泉 修一（山梨大・院医・薬理）
コメンテーター： 木口 倫一（和歌山県立医科大・薬・生体機能解析）



C-2-1

15:10



抗がん剤 vincristine 誘起末梢神経障害の発現におけるマクロファージおよび Schwann 細胞由来 HMGB1 と局所血液凝固系の相反する役割

○迫 桃子¹、青木葉 優衣¹、谷津 健太¹、関口 富美子¹、坪田 真帆¹、友野 靖子²、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・創薬研究推進

C-2-2

15:22

HMG-CoA 還元酵素阻害剤は GST を介して抗がん剤誘発性機械的刺激応答閾値低下を改善する

○相澤 風花^{1,2}、岡林 亜美²、森山 大嗣²、八木 健太^{2,3}、新村 貴博^{2,3}、合田 光寛^{1,2}、石澤 有紀^{2,4}、川田 敬^{2,5}、石澤 啓介^{1,2,3}

¹徳島大学病院・薬剤部、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・総合臨床研究センター、⁴医療法人倚山会・田岡病院・総合臨床科、⁵徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野

C-2-3

15:34

マクロファージ・ミクログリアの性差と神経障害性疼痛形成機構

○雑賀 史浩^{1,2}、木口 倫一²

¹宝塚医療大学・和歌山保健医療学部・リハビリ、²和歌山県立医科大・薬・生体機能解析学

C-2-4

15:46



変形性膝関節症での疼痛遷延化に対する海馬ミクログリアの活性変化の関与

○山本 健太、中島 一恵、中村 庸輝、森岡 徳光

広島大・院医系・薬効解析

C-2-5

15:58



ジンジバリス菌由来リポ多糖類（LPS）刺激によるミクログリアにおける IL-1b 産生に対する b-ディフェンシン 3 の抑制メカニズムの解析

○井上 瑛里加¹、湊崎 紫陽¹、小田 康祐²、野中 さおり²、中西 博²

¹安田女子大・薬、²安田女子大・薬・薬理学分野

C-2-6

16:10

代表的な歯周病菌「ジンジバリス菌」が分泌する外膜ベシクル（OMV）による脳ならびに腸バリア機能の破綻メカニズムの解明

○野中 さおり、中西 博

安田女子大・薬

C 会場

16:30-17:42 **一般演題（口演） 消化器・呼吸器**
座長： 池田 康将（徳島大・院医歯薬・薬理）
座長： 関 貴弘（姫路獨協大・薬・薬理）
コメンテーター： 人見 浩史（関西医科大・医・iPS 再生医学）
コメンテーター： 東 泰孝（大阪公大・獣医・薬理）



C-3-1 ランソプラゾールはイソニアジドによる肝障害を軽減する

16:30



○大瀧 翔太¹、若井 恵里¹、白水 崇¹、小岩 純子¹、田丸 智巳²、西村 有平¹
¹三重大・医・統合薬理学、²三重大学医学部附属病院・臨床研究開発センター

C-3-2 非アルコール性脂肪性肝疾患モデルに対するD-cysteine の効果

16:42

○関 貴弘^{1,2}、那須 健斗²、前田 仁志³、今野 歩⁴、人羅 菜津子²、倉内 祐樹²、
平井 宏和⁴、渡邊 博志⁵、丸山 徹³、香月 博志²

¹姫路獨協大・薬・薬理、²熊本大院・生命・薬物活性、³熊本大院・生命・薬剤、⁴群馬大院・
医・脳神経再生、⁵熊本大院・生命・医療情報

C-3-3 シトリン欠損症患者由来 iPS 細胞を用いた尿素サイクル異常症の病態肝モデル作製

16:54

○人見 浩史¹、岡野 舞^{1,2}、下村 優衣¹、金子 一成²

¹関西医科大・医・iPS 再生医学、²関西医科大・医・小児科

C-3-4 ケモカイン受容体 CCR6 は IL-17A 産生細胞の遊走を介して劇症肝炎病態を制御する

17:06



○坂東 政充、原 雄大、竹中 美貴、松尾 一彦、中山 隆志
近畿大・薬・化学療法学研究室

C-3-5 低重力下における消化管と骨髄における鉄動態の検討

17:18

○池田 康将¹、船本 雅文¹、安田 英紀¹、今西 正樹²、土屋 浩一郎²

¹徳島大・院医歯薬・薬理学、²徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

C-3-6 塩酸誘発性急性肺障害におけるインターロイキン-19 の新規的役割について

17:30

○東 泰孝

大阪公大・獣医・薬理

D 会場

13:40-15:04 一般演題(口演) 骨・関節・循環器
座長： 大喜多 守(大阪医科薬科大・薬・病態分子薬理)
座長： 土屋 浩一郎(徳島大・薬・医薬品機能生化学)
コメンテーター： 田中 智之(京都薬科大・薬・薬理)
コメンテーター： 木内 祐二(昭和大・医・薬理)



D-1-1 Pyruvate dehydrogenase kinase 1は骨肉腫幹細胞の細胞特性を制御する

13:40

○田中 優妃、徳村 和也、檜井 栄一

岐阜薬科大・薬・薬理学研究室



D-1-2 軟骨無形成症モデルマウスに対するCDK8阻害剤の治療効果の検討

13:52

○久保 拓也¹、貞盛 耕生¹、山本 めぐみ²、北尾 達哉²、白波瀬 弘明²、檜井 栄一¹

¹岐阜薬科大・薬・薬理学研究室、²京都薬品工業



D-1-3 糖尿病合併心不全に対する漢方薬五苓散の抑制効果

14:04

○廣瀬 駿次¹、船本 雅文²、今西 正樹¹、安田 英紀²、池田 康将²、土屋 浩一郎¹

¹徳島大・薬・医薬品機能生化学分野、²徳島大・院医歯薬・薬理学分野



D-1-4 Single-cell RNA-seq データセットを用いた変形性関節症における細胞老化と糖鎖修飾の関連性の検討

14:16

○吉本 誠、徳村 和也、檜井 栄一

岐阜薬科大・薬・薬学科



D-1-5 抗PD-L1抗体による炎症性関節炎の滑膜線維芽細胞における病態解明

14:28

○細沼 雅弘¹、中野 僚太²、豊田 仁志¹、篠内 良介³、船山 英治³、磯部 晃¹、木内 祐二¹、吉村 清⁴

¹昭和大・医・薬理学講座 医科薬理学部門、²昭和大・薬・基礎医療薬学講座生理学部門、³昭和大・薬・基礎医療薬学講座薬理学部門、⁴昭和大・臨床薬理研究所・臨床免疫腫瘍学部門

D-1-6 可溶性グアニル酸シクラーゼ活性化薬のブタ冠動脈および冠静脈に対する弛緩作用の比較

14:40

○田和 正志、中川 恵輔、大喜多 守

大阪医科薬科大学・薬・病態分子薬理

D-1-7 フルオロキノロン系抗菌薬による大動脈疾患リスクに関する2つの矛盾

14:52

○石澤 有紀^{1,2}、宮田 晃志²、辻中海斗^{2,3}、糸数 柁人²、宮田 辰巳²、近藤 正輝^{2,3}、新村 貴博^{2,4}、吉岡 俊彦^{2,3}、相澤 風花^{2,3}、八木 健太^{2,4}、川田 敬⁵、合田 光寛^{2,3}、石澤 啓介^{2,3,4}

¹(医)倚山会 田岡病院・総合診療科、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・薬剤部、⁴徳島大学病院・総合臨床研究センター、⁵徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野

D 会場

15:10-16:22 一般演題 (口演) がん・シグナル伝達
座長: 富田 修平 (大阪公立大・医・分子病態薬理)
座長: 大矢 進 (名古屋市立大・院医)
コメンテーター: 金井 好克 (大阪大・院医・生体システム薬理)
コメンテーター: 藤野 裕道 (徳島大・院薬・生命薬理)



D-2-1 Protein kinase Aが制御するEP4受容体シグナル伝達メカニズムの解明

15:10



○柳川 瞬矢¹、東山 晃子¹、福島 圭穂¹、Regan John W²、藤野 裕道¹

¹徳島大・院薬・生命薬理学分野、²Dept. Pharmacol. & Toxicol., Coll. of Pharm., The Univ. of Arizona

D-2-2 EP4プロスタノイド受容体下流の大腸がん原因因子の同定と誘導メカニズムの解明

15:22



○小西 勇夢¹、福島 圭穂²、Regan John W³、藤野 裕道⁴

¹徳島大・院薬・生命薬理学分野、²徳島大・院薬・生命薬理学分野、³The University of Arizona・College of Pharmacy・Department of Pharmacology and Toxicology、⁴徳島大・院薬・生命薬理学分野

D-2-3 ヒト前立腺がんLNCaPスフェロイドモデルにおけるCa²⁺活性化K⁺チャネル阻害によるユビキチンリガーゼFBXW7の活性化

15:34

○大矢 進、鬼頭 宏彰、梶栗 潤子、山口 陽平、松井 未来
名古屋市立大・院医

D-2-4 がん細胞におけるアミノ酸トランスポーターLAT1の阻害はp38 MAPK活性化を介したサイクリンD1の下方制御によりG0/G1期からS期への移行を抑制する

15:46



○Zhou Xinyu¹、大垣 隆一^{1,2}、Jin Chunhuan¹、Xu Minhui¹、岡西 広樹¹、遠藤 仁³、金井 好克^{1,2}

¹大阪大・院医・生体システム薬理、²大阪大・先導的学際研究機構・生命医科学融合フロンティア研究部門、³ジェイファーマ株式会社

D-2-5 マクロファージの低酸素誘導因子発現が腫瘍組織環境へ与える影響についての検討

15:58



○平川 遼、松永 慎司、徳留 健太郎、本間 拓二郎、富田 修平
大阪公立大・医・分子病態薬理学

D-2-6 Bcr-Abl阻害剤に対する慢性骨髄性白血病細胞の耐性獲得メカニズムの探索

16:10

○八木 健太¹、今若 清香²、高岡 麻佑²、岡本 尚大^{2,3}、相澤 風花^{2,3}、新村 貴博^{1,2}、合田 光寛^{2,3}、川田 敬^{2,4}、石澤 有紀^{2,5}、石澤 啓介^{1,2,3}

¹徳島大学病院・総合臨床研究センター、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・薬剤部、⁴徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野、⁵医療法人倚山会・田岡病院・総合臨床科

D 会場

16:30-17:42 一般演題 (口演) 細胞・感覚器・新技術
座長： 日比野 浩 (大阪大・院医・薬理)
座長： 上山 健彦 (神戸大・バイオシグナル総合研究セ・分子薬理)
コメンテーター： 今井 由美子 (医薬基盤・健康・栄養研・ヘルス・メディカル微生物研究セ)
コメンテーター： 西村 有平 (三重大・院医・統合薬理)



D-3-1 S-ニトロシル化修飾によるG3BP1のストレス顆粒形成制御と細胞保護作用

16:30



○伊藤 和、久保田 翔、高杉 展正、上原 孝
岡山大・院医歯薬・薬効解析学

D-3-2 IRE1 α 特異的酸化修飾阻害薬の開発とその抗細胞死効果

16:42



○黒木 春那¹、Zhang Kam²、Kumar Ashutosh²、阿部 匠³、澤田 大介³、上原 孝¹
¹岡山大・院医歯薬・薬効解析学、²理研・生命機能科学研究セ・構造バイオインフォマティクス、³岡山大・院医歯薬・精密有機合成化学

D-3-3 パルミトイル化修飾酵素DHHCタンパク質の新規活性測定法の開発と機能解析

16:54

○足立 直子¹、Hess Douglas T.²、上山 健彦¹
¹神戸大・バイオシグナル総合研究センター・分子薬理分野、²Case Western Reserve University・ITMM

D-3-4 トリコプレインによる一次線毛形成制御の組織損傷再生における役割について

17:06

○白水 崇、稲垣 昌樹、西村 有平
三重大・院医

D-3-5 高速スキャン型スペckルノイズ変調OCTによるイメージ像の鮮明化

17:18

○太田 岳¹、小野 和也¹、日比野 浩^{1,2}
¹大阪大・院医・薬理学講座統合薬理学、²AMED・AMED-CREST

D-3-6 ダイヤモンド電極による薬物モニタリングシステムの構築とその臨床応用への展望

17:30

○日比野 浩¹、Ahmad Norzahirah Binti¹、柴山 礼寛¹、緒方 元気²、齋木 琢郎³、西條 康夫³、栄長 泰明²
¹大阪大・院医・統合薬理、²慶應義塾大・理工・化学科、³新潟大・院医歯・腫瘍内科

受賞講演要旨

A会場

受賞講演

睡眠恒常性におけるカルシウムの役割

The role of Calcium in Sleep Homeostasis



上田 泰己
東大院医 システムズ薬理学
Hiroki R. Ueda
Dept. Systems Pharmacol., UTokyo.

我々は眠気の実体を明らかにするために哺乳類のノンレム睡眠について神経細胞の活動パターンを担うイオンチャネル・ポンプについて、ノンレム睡眠時の神経活動の数値モデリングと、マウス睡眠表現型の解析システム（SSS法）、交配を必要としない独自のKOマウス作製技術（Triple-CRISPR法）を用いて、細胞内Ca²⁺動態に直接関与する一連のイオンチャネル・ポンプが睡眠時間制御に重要であることを見出した。さらに細胞内Ca²⁺が制御するリン酸化酵素に着目しCamk2a/b KOマウスが著明な睡眠時間の短縮を示すことを明らかにした。これはCaMKII α/β が睡眠を誘導するリン酸化酵素であることを意味する。この発見を元に、睡眠恒常性において、神経細胞の興奮性の持続がカルシウム依存的なリン酸化制御を誘導し眠気を惹起する機構を提唱するに至った。本講演では、動物を用いた睡眠研究の現在を解説するとともに、ヒトにおける睡眠・覚醒リズム研究の現在やシステムに基づく医学（システム医学）の実現に向けた試み、特に睡眠健診の実現に向けた取り組みについても議論したい。

In order to elucidate the mechanisms of sleep homeostasis, we focused on ion channels and pumps that govern the neural activity patterns during non-REM sleep in mammals. Through mathematical modeling of neural activity during non-REM sleep and the use of a Mouse Sleep Phenotyping System (SSS method) and a unique knockout mouse production method (Triple-CRISPR method) that does not require mating, we discovered a series of ion channels and pumps directly involved in intracellular Ca²⁺ dynamics crucial for the control of sleep duration. Furthermore, by examining the kinases controlled by intracellular Ca²⁺, we revealed that Camk2a/b knockout mice exhibit significant reduction in sleep duration, implying that CaMKII α/β serves as sleep promoting kinases. Based on this discovery, we proposed a mechanism where the sustained excitability of neurons induces calcium-dependent phosphorylation control, leading to the initiation of sleepiness in the regulation of sleep homeostasis. In this lecture, we aim to discuss the current state of sleep research using animals, as well as endeavors towards achieving a systems medicine approach to sleep/wake cycle research in humans, particularly in realizing sleep checkup in near future.

A-1-1

カルシウムマイクロドメインによる血管機能制御機構の解明**Identification of regulatory mechanisms of vascular functions by Ca²⁺ microdomains**

鈴木 良明

名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析学

Yoshiaki Suzuki

Dept. Mol. & Cell. Pharmacol., Grad. Sch. Pharmaceut. Sci., Nagoya City Univ.

Ca²⁺ チャンネルは足場タンパク質を介して下流の Ca²⁺ 感受性分子と Ca²⁺ マイクロドメインを形成することで、刺激特異的な生体応答を引き起こす。我々は血管平滑筋細胞において、足場タンパク質 (caveolin-1 と junctophilin-2) が、細胞膜-筋小胞体間に Ca²⁺ マイクロドメインを形成し、Ca²⁺ シグナルを過分極へ変換することで血管張力を精密に制御する機構を明らかにした。また、caveolin-1 を足場とした Cav1.2 - CaMKK2 - CaMK1 α 分子複合体が、Ca²⁺ シグナルを遺伝子転写へ変換することで、血管リモデリングの発症に関与することを見出した。さらに、mitofusin-2 が筋小胞体とミトコンドリアを近接させ、細胞増殖を促進することも発見した。以上より、Ca²⁺ マイクロドメインが正常な血管機能と血管リモデリング形成の両方で重要な役割を担うことが示唆された。本成果は、血管リモデリングに関する薬理学的研究に対して新たな知見を提供し、Ca²⁺ マイクロドメイン構成分子を標的とした新たな血管リモデリング治療薬の開発に寄与すると考えられる。

Ca²⁺ channels induce stimulus-specific physiological responses by forming Ca²⁺ microdomains with downstream Ca²⁺-sensitive molecules via scaffold proteins. We found that in vascular smooth muscle cells (VSMCs), scaffold proteins such as caveolin-1 and junctophilin-2 form a Ca²⁺ microdomain consisting of large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels and ryanodine receptors between the plasma membrane and the sarcoplasmic reticulum (SR). This Ca²⁺ microdomain precisely controls vascular tone by effectively converting Ca²⁺ signals into hyperpolarization. We also found that the Cav1.2-CaMKK2-CaMK1α molecular complex mediated by caveolin-1 is involved in the pathogenesis of vascular remodeling (medial hypertrophy) by converting Ca²⁺ signals into gene transcription. Furthermore, we demonstrated that mitofusin-2 tethers mitochondria to the SR, thereby regulating ATP production and VSMC proliferation. These results strongly suggest that Ca²⁺ microdomains play important roles in both normal vascular functions and vascular remodeling. Our research provides new knowledge for pharmacological research on vascular remodeling and contributes to the development of novel drugs for vascular remodeling targeting molecules composing Ca²⁺ microdomains.

A-1-2

情動制御およびストレス抵抗性におけるセロトニン神経の役割に関する研究

On the role of serotonin neurons in control of preference, aversion, and stress resiliency



永安 一樹

京都大・院薬 生体機能解析

Kazuki Nagayasu

Dept. Mol. Pharmacol., Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyoto Univ.

セロトニン神経は、脳幹の縫線核群を起始核とし中枢神経系全体を神経支配している。縫線核群の中でも背側縫線核（DRN）および正中縫線核（MRN）に局在するセロトニン神経が、情動制御や意思決定を含む高次脳機能に深く関与することが明らかにされてきた。我々はこれまでに、種々の抗うつ薬がセロトニン神経の活動性自体を亢進させることを見出し、その分子機序について検討を行ってきた。また、この活動性亢進のみで抗うつ薬様作用が引き起こされるかを検証するため、セロトニン神経選択的ウイルスベクターを開発し光遺伝学的ツールと組み合わせた検討を通じて、DRN セロトニン神経の活性化が抗うつ薬様作用と快情動の誘発作用をもたらすことを見出した。さらに、DRN セロトニン神経の一過性の活性化を数日にわたり繰り返すことで、持続的な抗うつ薬様作用が得られることならびにその機序の一端を明らかにした。また、DRN とは対照的に MRN セロトニン神経が不快情動を司ることならびにその神経・分子機序の一端を明らかにした。これらの結果は、情動制御およびストレス抵抗性におけるセロトニン神経の重要かつ多様な役割を示唆している。

Serotonergic neurons, originating in the raphe nuclei of the brainstem, innervate the entire central nervous system. Among the raphe nuclei, serotonergic neurons localized in the dorsal raphe nucleus (DRN) and median raphe nucleus (MRN) are deeply involved in higher brain functions, including emotion regulation and decision-making. We have found that various antidepressants increase the activity of serotonergic neurons and have investigated the molecular mechanism of this increase. In addition, we have developed serotonergic neuron-selective viral vectors and combined them with optogenetic tools to examine whether this increase in activity alone induces antidepressant-like effects. We found that activation of DRN serotonergic neurons induces antidepressant-like effects and positive emotions. Furthermore, we found that repeated transient activation of DRN serotonin neurons over a period of five days can produce sustained antidepressant-like effects in stressed animals and underlying mechanisms. Moreover, we revealed that the MRN serotonergic neurons are responsible for negative emotions, and underlying neural and molecular mechanisms. These results suggest the essential and multifaceted roles of serotonergic neurons in emotion regulation and stress resiliency.

A-1-3

プリオン性タンパク質凝集機構の解明と創薬応用に関する薬理学的研究 Research on the mechanism underlying aggregation of prion-like protein and its applied drug discovery



矢吹 悌

熊大・発生研 ゲノム神経

Yasushi Yabuki

Dept. Genom. Neuro. IMEG. Kumamoto Univ.

α -Synuclein (α -Syn) や Tau などのプリオン性タンパク質は、未知の要因でミスフォールディングによる凝集核を形成する。さらに、この凝集核は正常タンパク質を連続的に凝集し続け、細胞間伝播することで神経変性を誘導するが、そのメカニズムは未解明である。私達は、神経細胞内における RNA グアニン四重鎖 (RNA G-quadruplex; G4RNA) の集合体がプリオン性タンパク質凝集の足場となり、神経変性を誘導することを見出した。この現象は、遺伝性だけでなく孤発性の神経変性疾患でも見られることから、『G4RNA によるプリオン性タンパク質凝集機構』が神経変性に共通した分子メカニズムであることが示唆される。本講演では G4RNA による α -Syn 凝集機構に関する研究成果を中心に紹介する。また、今後の研究展開についても言及したい。

Misfolded prion-like proteins including α -Synuclein (α -Syn) and Tau form an aggregate, these aggregates continuously induce aggregation of normal prion-like proteins and propagate from cell to cell, leading to neurodegeneration. However, these molecular mechanisms are still unknown. We have demonstrated that RNA guanine quadruplex (RNA G-quadruplex; G4RNA) forming scaffolds for prion-like protein aggregation leads to progressive neurodegeneration. It is demonstrated not only in hereditary but also in sporadic neurodegenerative diseases, suggesting that G4RNA assembly-induced prion-like protein aggregation may be a common molecular mechanism in neurodegeneration. In this session, I will focus on the recent research about the mechanism of α -Syn aggregation by G4RNA. Moreover, I would like to discuss the future direction of the research.

一般演題要旨

B会場

B-1-1 記憶想起を調節するヒスタミン神経活動動態



○井筒 蓮太郎¹、森下 良一¹、高村 侑希^{1,2}、西村 京華²、横井 雄斗¹、人羅(今村) 菜津子^{2,3}、南 雅文²、野村 洋^{1,2}

¹名古屋市立大・院医・認知機能病態学、²北海道大・院薬・医療薬学部門 医療薬学分野 薬理学研究室、³熊本大・院生命科学・(薬学系)薬物活性学分野

認知症では記憶想起が重度に障害されて思い出すことが困難になり、日常生活に大きな影響を及ぼす。脳内ヒスタミンは結節乳頭核に局在するヒスタミン神経で産生され、覚醒や摂食リズム、認知機能など多くの生理機能を調節する神経伝達物質として知られており、記憶想起にも関係している。これまでに私たちは、ヒスタミンH₃受容体拮抗薬が嗅周皮質におけるヒスタミン放出を増強させ、失われた記憶の想起を回復させることを明らかにした。しかし、ヒスタミン神経の活動状態と記憶想起との関係性は不明であった。そこで本研究では、音報酬条件付けによる記憶行動課題と光遺伝学的手法を用いて、ヒスタミン神経の活動操作が想起成績に与える影響を解析した。その結果、手がかりである音 (CS) 提示の直前にヒスタミン神経活動を光遺伝学的に抑制すると報酬条件付け記憶の想起成績が低下することが観察された。一方、ヒスタミン神経活動の光遺伝学的抑制による音驚愕反応やプレパルスインヒビション (PPI) への有意な影響は観察されていないことから、ヒスタミン神経活動の光遺伝学的抑制はマウス個体の聴力やCSに対する注意力に影響を及ぼさず、記憶想起を減弱させることが示唆された。以上の結果は、ヒスタミン神経の活動動態が記憶想起の重要な調節因子であることを示唆している。

B-1-2 ヒスタミンH₃受容体逆作動薬/拮抗薬による大脳皮質広域神経活動の調節



○貝田 千太郎、高村 侑希、平野 匡佑、森下 良一、野村 洋

名古屋市立大・院医・認知機能病態学分野

大脳皮質広域の自発的な神経活動は記憶・学習や意思決定などの認知機能と関わり、その異常は神経・精神疾患の病態と関連する。ヒスタミン神経は大脳皮質を含む脳広域に投射し、記憶・学習や睡眠覚醒など多様な脳機能の調節に寄与する。そのため、ヒスタミン神経系の活性化が大脳皮質広域の神経活動に及ぼす影響は、脳機能の調節において重要であると考えられるが、そのメカニズムは不明である。そこで本研究では、ヒスタミン神経系を活性化させるヒスタミンH₃受容体 (H₃R) 逆作動薬/拮抗薬が大脳皮質広域の神経活動をどのように調節するかを調べた。C57BL/6Jマウスの大脳皮質広域の神経細胞に蛍光Ca²⁺センサー-GCaMP8mを発現させるため、眼窩静脈叢にAAV-PHP. eB-hsyn-GCaMP8mを投与した。投与から3週間以上経過した後、頭蓋骨を露出させ、背側皮質全域のGCaMP8m蛍光を経頭蓋的に測定した。H₃R逆作動薬/拮抗薬であるPitolisant (20 mg/kg)、Thioperamide (20 mg/kg)あるいは生理食塩水を1日毎に腹腔内投与し、投与10分前と投与30分後からそれぞれ10分間の安静時神経活動を取得した。投与する薬物によって大脳皮質全体の神経活動に違いが生じるか調べるため、機械学習によって投与群を識別できるか検証した。投与後の神経活動を10秒ごとに分割し、どの薬物を投与したかラベリングした。この神経活動データセットの一部を用いてサポートベクターマシンによる学習を行い、残りの神経活動データから投与薬物の予測を行った。その結果、3つの薬物を68%の正答率で識別することができ、これは投与前の神経活動を用いた予測よりも高い正答率だった。さらに、各脳領域におけるCa²⁺イベントを検出し、薬物投与前後で比較した。その結果、薬物投与後のCa²⁺イベントの大きさの分布が投与群間で異なっていた。特に、Pitolisant、Thioperamide投与群では生理食塩水投与群に比べて、脳梁膨大後部皮質や体性感覚野において大きなイベントが増加し、小さなイベントが減少していた。Ca²⁺イベントの頻度はどの領域においても差が認められなかった。これらの結果から、H₃R逆作動薬/拮抗薬は大脳皮質広域の神経活動を調節し、特に脳梁膨大後部皮質や体性感覚野における神経活動が強調されることが示唆された。

B-1-3 神経保護的ミクログリアにおけるTLR4の発現量変化とTLR4下流シグナルの検討

○神垣 真由美、内園 望未、大堂 翔、石原 熊寿

広島国際大・薬・病態薬理学

【背景・目的】

ミクログリアは先天的な中枢神経系のマクロファージ様細胞であり、神経保護的・傷害的な働きを有するとの報告がある。先行研究において、ラット新生児の脳から作製した初代培養ミクログリアをアストロサイトから単離すると無刺激では48時間以内にほぼ死滅する。一方、アストロサイトから単離したミクログリアにリポポリサッカライド(LPS)を処置した場合には濃度依存的に急速な細胞死を示すが、死を免れた一部のミクログリアは長期間生存する。このLPS処置による長期生存には顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)の自己産生が関与している。加えて、これらの長期間生存ミクログリアは神経保護効果を示す。しかし、LPS処置によるToll様受容体4(TLR4)の活性化から、長期生存・神経保護に至るシグナル経路には不明な点が多い。そこで、LPS処置によるTLR4の発現量の変化を検討した。さらに、TLR4の下流に存在するNF- κ B、p38MAPKに着目し、GM-CSF受容体下流に存在するSTAT5のリン酸化、および保護的ミクログリアのマーカーであるArginase-1の発現にNF- κ Bおよびp38MAPKが関与するか検討した。

【方法】

ラット初代培養ミクログリアは、新生仔脳から作成した。初代培養ミクログリアにLPS (30 ng/mL)単独処置、LPS無処置/処置+BAY11-7082 (NF- κ B阻害薬)処置、LPS無処置/処置+SB202190 (p38MAPK阻害薬)処置条件にて24時間処置したサンプルにてウェスタンブロットを行った。

【結果】

LPS処置ミクログリアにおいてTLR4の発現が増加し、この増加はBAY11-7082(2 μ M)またはSB202190(5 μ M)を併用処置により抑制された。また、LPS処置によりSTAT5のリン酸化が生じたため、GM-CSF受容体が活性化することが確認できた。このSTAT5のリン酸化は、BAY11-7082またはSB202190の併用処置により抑制された。さらに、Arginase-1の発現もLPS処置により増加し、この増加はBAY11-7082またはSB202190の併用処置により抑制された。

【考察】

LPS処置ミクログリアの長期生存・神経保護的性質の発現には、TLR4の下流に存在するNF- κ Bおよびp38MAPKシグナル系だけでなく、TLR4の発現増加が関与することが示唆される。

B-1-4 卵巣摘出マウスへのエリスロポエチン製剤の投与は、血管新生に影響を及ぼすことなく、運動パフォーマンスを向上させる

○居場 嘉教¹、山田 幸佳¹、佐和田 真一¹、山田 晋太郎¹、山下 葉平¹、石田 善行²、中田 大介²、寺尾 啓二²

¹摂南大・理工、² (株) シクロケムバイオ

【背景・目的】 エリスロポエチン (EPO) 製剤は、ドーピング禁止薬物に指定されているが、赤血球の増加と運動パフォーマンス向上との因果関係は、科学的に証明されている訳ではない。これまでに、持続型EPO製剤であるダルベポエチン α (DPO) による運動パフォーマンス向上効果には性差があり、雌性マウスでのみ効果が認められることを明らかにしている。本実験では、性ホルモンの関与を明らかにする目的で、卵巣摘出マウスを用いてDPO投与による運動パフォーマンス向上効果を調べた。

【方法】 5週齢時に卵巣摘出を行ったFVB/Nマウスに、7週齢時から強制回転かごを用いた1時間の運動を週5日間負荷した。遊泳能力が均等になるように2群に分け、コントロール群には生理食塩液を、DPO投与群には、DPO (10 μ g/kg/week) を2週間皮下投与した。強制遊泳試験は週1回行い、遊泳試験終了後にヘマトクリット (Hct) 値を計測した。最終遊泳の翌日に腓腹筋を摘出し、PGC-1 α mRNA発現、筋線維横断面積および毛細血管密度を比較した。

【結果】 卵巣摘出マウスへのDPOの投与は、Hct値を投与1週間後から有意に増加させ、無処置の雌性マウスの場合よりも、顕著な運動パフォーマンス向上効果を示した。DPOの投与は、腓腹筋においてPGC-1 α mRNA発現を有意に増加させた。また、DPOの投与は、腓腹筋の筋線維横断面積を有意に増加させたが、毛細血管密度には影響を及ぼさなかった。

【結論】 女性ホルモンは、DPOによる運動パフォーマンス向上効果に対してむしろ抑制的に作用していると考えられた。卵巣摘出マウスで認められたDPO投与による運動パフォーマンス向上効果には、腓腹筋におけるPGC-1 α mRNA発現の亢進および筋肥大の関与が示唆されたが、血管新生は関与していないと考えられた。

B-1-5 フェンシクリジン連続投与マウスの社会性および認知行動におけるニコチン性アセチルコリン受容体の役割

○野田 幸裕¹、内田 美月¹、北垣 伸治²、久島 周³、尾崎 紀夫⁴、吉見 陽¹

¹名城大・薬・病態解析 I、²名城大・薬・薬化学研究室、³名古屋大・医・ゲノム医療セ、⁴名古屋大・院医・精神疾患病態解明

【目的】統合失調症 (SCZ) 患者の習慣的な喫煙は、喫煙から摂取したニコチン (NIC) が中枢神経系のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) を刺激することで、患者自身の精神症状の改善、あるいはNICへの精神的な依存に対する脆弱性の形成に関与すると考えられている。本研究では、SCZ様モデルマウスを用いて、習慣的な喫煙が治療効果を得るためのものか、あるいは精神的依存によるものか、さらにnAChRサブユニットがどのように関与しているかを検討した。

【方法】 ddY系雄性マウスにフェンシクリジン (PCP : 10 mg/kg/day) を14日間連続投与して、SCZ様モデルマウスを作製した。PCP最終投与の翌日から (-)-NICやリスペリドン (RIS) を11日間連続投与し、最終投与30分後に行動実験を実施した。選択的 $\alpha 7$ nAChR拮抗薬のメチルリカコニチン (MLC) と選択的 $\alpha 4 \beta 2$ nAChR拮抗薬のジヒドロ- β -エリスロイジン (Dh β E) を (-)-NIC投与の15分前に投与した。PCP最終投与12日後に脳を摘出し、nAChRサブユニットのmRNAやタンパク質の発現を解析した。

【結果】 PCP連続投与マウスでは社会性や認知機能の行動障害、前頭前皮質の $\alpha 7$ や $\alpha 4$ nAChRサブユニットの発現減少、側坐核の $\alpha 7$ 、 $\alpha 4$ や $\beta 2$ nAChRサブユニットの発現増加が認められた。これらの変化は、条件場所嗜好性行動に影響を与えずに (-)-NIC連続投与によって緩解され、両行動障害に対する緩解作用はMLCやDh β Eによって抑制された。PCP連続投与マウスに (-)-NIC無作用量とRIS弱作用量を併用投与すると、行動障害が相乗的に緩解され、(-)-NIC連続投与により行動感作とハロペリドール誘発性カタレプシー軽減作用が認められた。

【結論】 PCP連続投与マウスではnAChRサブユニットの発現が変化していたこと、(-)-NICによって行動障害が緩解されたが、報酬効果は示さなかったことから、SCZ患者の習慣的な喫煙はnAChRサブユニット刺激によって精神症状や副作用を軽減するためであると示唆される。PCP連続投与マウスでは、(-)-NICに対するドパミン神経の感受性が増加していたことから、これらの緩解作用にはnAChR刺激によるドパミン神経の活性化が関与している可能性がある。

B-1-6 フルオロクエン酸によるアストロサイトの不活性化がペンチレンテトラゾール誘発けいれんに及ぼす影響

○國澤 直史、清水 佐紀、大野 行弘

大阪医科薬科大学・薬・薬品作用解析学

【目的】 アストロサイトは、空間的K⁺緩衝機構による細胞外K⁺濃度調節、シナプス部の神経伝達物質の取り込み、グリオトランスミッターの遊離などを介して神経興奮を制御している。また、アストロサイトの機能異常はてんかん発作の発症制御に関与していることが知られている。本研究では、アストロサイト選択的抑制剤フルオロクエン酸 (FC) によるアストロサイトの不活性化がペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発けいれんに与える影響を評価した。

【方法】 実験には7~8週齢のSD系雄性ラットを用い、FC (1 nmol) あるいは生理食塩水 (対照) は右側脳室に微量注入した。FC投与から2時間後、灌流脳摘出を行い、後日、アストロサイトの活性化マーカーであるGFAPの免疫組織染色を行った。さらに、FC投与による海馬内グルタミン酸遊離量変化を *in vivo* microdialysis法により測定した。けいれん感受性評価では、FC投与から2時間後にPTZ (40 mg/kg, i. p.) を投与し、15分間のけいれん行動観察を行った。また、PTZ投与から2時間後に脳摘出を行い、神経興奮マーカーであるFosタンパク質の免疫組織染色に用いた。

【結果】 FC脳室内投与により、嗅周-嗅内皮質、梨状葉皮質 (PirC)、扁桃体外側基底核 (BLP)、海馬CA2、海馬歯状回 (DG) におけるGFAP陽性アストロサイトの発現が有意に減少した。また、FC投与により海馬内グルタミン酸濃度の一過性の増加がみられた。PTZにより誘発されるけいれん発作に対するFCの影響を評価した結果、FCを投与された動物ではPTZ誘発けいれんは増強し、また、BLP、DGにおけるFos発現が有意に増加していた。

【結論】 本研究結果より、FCは扁桃体および海馬におけるアストロサイトの機能を抑制し、過剰な神経興奮をもたらすことでPTZ誘発けいれんの感受性を亢進させることが示唆された。

B-1-7 アルツハイマー病モデルマウスにおけるミクログリアのカンナビノイド受容体2型を介した神経炎症調節と認知機能改善機序について

○祖父江 顕^{1,2}、小峯 起¹、遠藤 史人¹、齊藤 祐子³、村山 繁雄^{3,4}、斉藤 貴志^{1,5}、西道 隆臣⁶、山中 宏二¹

¹名古屋大・環境医学研究所・病態神経科学分野、²名古屋大・環境医学研究所・MIRAIC-未来の医学研究センター、³東京都健康長寿医療セ研・高齢者ブレインバンク、⁴大阪大・大学院連合・子どものこころの分子統御機構研究センター、⁵名古屋市立大・院医・脳神経科学研究所・認知症科学、⁶理研・脳神経科学研究センター・神経老化制御チーム

認知症の主要な原因疾患であるアルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)の中核となる病理は、アミロイドβ(Aβ)・タウ蛋白の異常蓄積であり、これらは神経変性につながる主要因子である。一方、AD脳の老人斑に集簇するグリア細胞の一種であるミクログリアはAβクリアランスや神経炎症に寄与し、ADの病態に関与することが注目されてきている。しかし、AD病態に関わる神経炎症因子とその制御については不明な点が多い。

本研究ではAD病理脳の楔前部およびAD患者脳内のアミロイドの蓄積を忠実に再現するApp^{M-G-F/M-G-F}マウス(App-KIマウス)から磁気細胞分離法で単離したミクログリアを用いて次世代シーケンシングを行い、神経炎症関連遺伝子の発現変化を解析したところ、主に免疫関連細胞に発現し、炎症調節に関与するカンナビノイド受容体2型(CB2)が共通して上昇していることが確認できた。このことから、脳内におけるミクログリアのCB2の機能を解析する目的で、5ヶ月齢のApp-KIマウスにJWH133を6ヶ月間連続飲水投与し、新奇物体探索試験およびバーンズ迷路試験を用いて認知機能への影響を解析した。その結果、App-KIにおいて低下した認知機能はJWH133投与により有意に改善することが明らかとなった。一方で、オープンフィールド試験によりJWH133投与は情動や自発運動量には影響しないことが明らかとなった。さらに、JWH133連続投与後に大脳皮質を摘出し、磁気細胞分離法でミクログリアおよびアストロサイトを単離し、定量RT-PCRを行った結果、単離ミクログリアにおいて活性化アストロサイトの誘導因子である*C1q*や単離アストロサイトにおいて活性化アストロサイトのマーカーである*H-2d*および*Psm80*の発現の低下などが確認できた。また、JWH133を投与したApp-KIマウスの大脳皮質において、神経変性突起のマーカーであるBACE1(β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1)の有意な発現低下が確認できた。これらのことからミクログリアにおけるCB2の刺激によりアストロサイトの活性化が抑制され、それによって神経炎症および認知機能の低下が改善されることが示唆された。

B-2-1 プロポフォルによる小胞体の形態変化と細胞内カルシウム動態



○野口 颯真、和田 花月、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、酒井 規雄

広島大・院医・神経薬理学研究室

【背景】

静脈麻酔薬プロポフォルは麻酔の導入・維持や鎮静に用いられるが、副作用として血管痛、血圧低下などを引き起こすことが知られている。さらに、長時間、高用量のプロポフォルの使用は、致死的なプロポフォル注入症候群(PRIS)を生じることがある。我々の過去の研究で、高濃度のプロポフォルは細胞内カルシウム上昇を惹起し、同時に小胞体の形態変化を伴うことを報告した。このことからプロポフォルの細胞内カルシウム上昇の機序は、小胞体からのカルシウム漏洩によるものと推察された。

本研究では細胞内小器官カルシウムインジケータCEPIAを利用した小胞体のCa²⁺動態のイメージングから、プロポフォルによる細胞内カルシウム上昇の機序とプロポフォルが小胞体に引き起こす形態変化をさらに明らかにすることを目的とした。

【方法】

小胞体のカルシウム濃度変化は、CEPIA1erを電気穿孔法により一過性に発現させたHeLa細胞を用いた。小胞体の形態変化はER-Tracker™ Redを用いた。これらの蛍光変化を共焦点レーザー顕微鏡で同時観察した。

【結果と考察】

プロポフォルは、濃度依存的に小胞体のカルシウム濃度を減少させ、同時に細胞質内のカルシウム濃度を上昇させた。また、小胞体の構造変化と小胞体のカルシウム濃度の減少は同期していた。

超解像度での観察では、小胞体のthree-way junctionにおいてER-Tracker™ Redが凝集する様子が見られた。一方、CEPIA1erで示される残存する小胞体内カルシウムはER-Tracker™ Redの凝集部位とは一致しなかった。

これらの結果から、プロポフォルによる小胞体構造変化に伴い小胞体内のカルシウム分布が変化し、その後細胞質へのカルシウム流出が起きたことが強く示唆された。

B-2-2 神経炎症を伴う認知機能障害に対するKir4.1チャンネル阻害薬の作用評価



○石崎 悠斗、清水 佐紀、田原 拓真、妹尾 帆夏、波部 寛和、武藤 瑠里、大野 行弘

大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

内向き整流性カリウム4.1 (Kir4.1) チャンネルはアストロサイトに発現し、うつ病やアルツハイマー病など様々な疾患の発症・進行に関与することが報告されている (Int. Mol. Sci., 22, 10236, 2021)。また、神経疾患に共通する重要な因子として知られる神経炎症においてアストロサイトの役割が注目されている (Nat. Rev. Neurol., 19, 395, 2023)。本研究では、神経炎症におけるKir4.1チャンネルの機能を明らかにするため、lipopolysaccharide (LPS) による神経炎症性の認知機能障害に対するKir4.1チャンネル阻害薬の作用を評価した。実験にはBALB/c系雄性マウスを使用し、LPS (0.4 mg/kg, i.p.) を7日間 (Day1~7) 反復投与した。Kir4.1チャンネル阻害薬としてはquinacrine (10, 30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3, 10 mg/kg, s.c.) を用い、LPS投与の30分前に7日間投与した。行動薬理学的評価として、反復投与終了後 (Day8, 9) に新奇物体認識 (NOR) 試験を行った。また、行動試験後 (Day10) に脳を摘出し、免疫染色によってGFAPおよびNeuNの発現解析を行った。さらに、LPSおよびquinacrine (30 mg/kg, s.c.) を3日間反復投与した際のGFAP発現も同様に免疫染色により評価した。NOR試験においてLPSの反復投与は認知機能の有意な低下を示し、quinacrine (30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3 mg/kg, s.c.) ともにLPSによる認知機能障害を有意に改善した。また、免疫染色においてLPSの3日間および7日間の反復投与は海馬領域におけるGFAP発現を有意に増加させた。一方で、quinacrine (30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3 mg/kg, s.c.) はともに、LPSによるGFAP発現の上昇を有意に抑制した。さらに、両薬物はLPSの7日間反復投与によるNeuN免疫応答性の有意な低下に対して、改善傾向を示した。以上のことから、Kir4.1チャンネルの阻害はLPSによるアストロサイト活性化の抑制および神経傷害を軽減し、神経炎症性の認知機能障害を改善することが示唆された。

B-2-3 肥満を伴う糖尿病状態のラット脳内におけるオレキシン受容体発現の変動

○相原 慎和¹、幸田 祐佳¹、松村 人志¹、古川 初花¹、畑 涼子¹、小島 千穂¹、花本 京香¹、藤岡 央¹、中村 有結¹、田中 早織¹、福石 信之²、加藤 隆児¹

¹大阪医薬大・薬・薬物治療、²金城学院大・薬・薬理

[目的] 肥満、糖尿病そして睡眠障害は、関連した一連の病態と捉えられる。睡眠・覚醒、摂食行動に関与するオレキシン神経系は、空腹時に活性化して、覚醒状態を維持し、摂食行動を促す役割を担う。我々は、糖尿病ラットにおいてオレキシンの血漿中濃度が上昇することを報告している。今回、肥満・2型糖尿病モデルであるOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットの脳内におけるオレキシン受容体発現の変動について検討した。

[方法] 5週齢のOLETFラットと対照群であるLong-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを38週齢まで飼育観察し、収縮期血圧の測定はテイルカフ法により行った。肥満の指標として、体重および内臓脂肪の重量を測定した。OLETFラットとLETOラットは麻酔下にて採血を行い、空腹時血糖値を測定、その後、脳組織を摘出した。オレキシン血漿中濃度はELISA法により測定し、脳組織からはRNA抽出を行った。肥満・糖尿病ラットの脳内におけるオレキシン受容体発現は、PCR法とアガロースゲル電気泳動法により検討した。

[結果および考察] 38週齢のOLETFラットでは、対照群のLETOラットと比較して、体重、内臓脂肪、収縮期血圧および空腹時血糖値の顕著な上昇がみられたことから、肥満ならびに糖尿病状態であると考えられる。肥満を伴う糖尿病モデルであるOLETFラットにおいて、摂食、睡眠、覚醒を制御する神経ペプチドであるオレキシンAの血漿中濃度が上昇する結果が得られた。OLETFラットでは、LETOラットと比較して、脳組織内におけるオレキシン1型受容体発現の上昇がみられた。不眠症治療薬としてオレキシン受容体拮抗薬が臨床的有用性を発揮していることを考え合わせると、OLETFラットはオレキシンの上昇による覚醒が持続し、脳内におけるオレキシン受容体発現の変動は、睡眠障害のみならず肥満を伴う糖尿病の病態に関与する可能性が考えられる。

B-2-4 Orexin neurons mediates motivation under reward-based motivative behavior



○DONG YUTAO¹、溝口 博之^{1,2}、山中 章弘³、山田 清文¹

¹名古屋大・院医・医療薬学講座、²名古屋大・環境医学研究所、³Chinese Institute for Brain Research

Orexin neurons in the hypothalamus regulate physiological functions, including energy homeostasis and wakefulness, and are also related to motivation. Here, we examined the roles of orexin neurons in motivated behaviors. We measured the activities of orexin neurons related to motivated behavior under the fixed ratio (FR) schedule and progressive ratio (PR) test of a touchscreen-based automated operant task using fiber photometry. We found that under FR5 conditions in which rats were able to obtain a food pellet by touching the screen consecutively five times, the orexin neuron activity peaked approximately 1.65 sec before rats obtained the reward, and then decreased after reward intake. Moreover, such changes in orexin neuron activity were gradually increased in the PR schedule test. On the other hand, temporal and momentary optogenetic suppression of the increased orexin neuron activity inhibited the reward-seeking behavior in FR5 schedule and reduced the breakpoint in the PR test. These observations suggest that the activity of orexin neurons is associated with the amount of effort to obtain reward in motivated behaviors, and that dynamic changes in orexin neuron activity may be related to craving and reward prediction, and satisfaction.

B-2-5 妊娠期低酸素曝露はラット大脳皮質内神経の発達に影響を与える

○徳留 健太郎¹、植木 正明²、本間 拓二郎¹、松永 慎司¹、大野 行弘³、富田 修平¹

¹大阪公立大学・院医・分子病態薬理、²西脇市立西脇病院・麻酔科、³大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

妊娠初期の母胎の低酸素状態は精神発達障害の一要因である。これまでに、妊娠中の低酸素負荷によって仔が精神発達障害様の行動表現型を示すラットモデルの樹立に成功し、この動物の帯状回皮質において神経細胞密度の減少を観察している。本研究では、上記ラットモデルの行動異常の原因を探索すべく、さらなる検討を加えた。

実験には、妊娠したF344ラットに低酸素負荷を施し、その母ラットより生まれてきた仔あるいは胎仔を使用した。ラットモデルより得られた脳より冠状切片を作成し、免疫組織化学染色を行なった。また、仔ラットの帯状回皮質における神経伝達機能を細胞外記録法により、集合電位を記録した。さらに、同実験方法にてシナプス応答性について評価し、それぞれを対照動物と比較した。

妊娠期の低酸素負荷ラットモデル (Hypoxiaラット) の帯状回皮質を構成する神経サブタイプへの影響を調べた。その結果、妊娠期低酸素曝露は介在神経密度に影響を与えることなく、グルタミン酸神経細胞である錐体細胞密度の減少を引き起こすこと、そして、これらの変化は既に新生仔期の帯状回皮質で観察されることが明らかになった。また、帯状回皮質の神経機能を評価した結果、定常状態における集合電位はHypoxiaラットにおいて有意な低下を示した。加えて、Hypoxiaラットの帯状回皮質ではpaired-pulse応答および長期増強現象の異常が観察され、妊娠期低酸素曝露は帯状回皮質でのシナプス応答性を障害することが明らかになった。さらに、低酸素曝露直後の胎仔新皮質における神経新生への影響について検討した結果、妊娠期の低酸素曝露は神経幹細胞の増殖活性を上昇させることにより、神経新生の初期段階を妨げられることが明らかになった。

以上、本研究結果より、妊娠期の低酸素曝露は帯状回皮質内の興奮性神経の発達を障害することによって、上記領域の神経伝達異常を引き起こすことが示された。

B-2-6 生後発達期ラットの大脳皮質領域における血液脳関門(BBB)形成段階の分類

○最上(重本) 由香里、北村(中山) 貴美子、佐藤 薫

国衛研・薬理

脳の血管は血液脳関門(BBB)とよばれるバリア機能を有しており、末梢血液と脳組織液の物質交換を制限することで、中枢神経系特有の薬物動態と恒常性を維持している。BBBは、脳毛細血管を構成する血管内皮細胞のTight Junction(TJ)蛋白質による密着結合と、トランスポーターによる配向性、さらに血管周囲を取り囲むペリサイトや脳側細胞により制御された、Neurovascular Unitとよばれる複合的な組織である。近年、脳血管に近接しているアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞がBBB機能を制御していることが報告されている。しかしながらこれらのグリア細胞とBBB形成・成熟との関連は未だ不明である。本研究では、P1~P30のラット大脳皮質毛細血管のBBB発達過程に注目し、脳血管のBBB形成と、アストロサイト、ミクログリアの局在を解剖学的に解析した。まず、成熟したBBBを通過しないエバンスブルーと組織固定型ビオチンを用いて、BBB形成時期を調べた。脳実質へのエバンスブルーおよび組織固定型ビオチンの漏出の程度は、P4まで高く、徐々に低下し、P15で最低値となりP30まで変化しなかった。次に、生後ラットの大脳皮質毛細血管とグリア細胞の免疫染色データをIMARIS 3D解析し、BBBの形成過程におけるアストロサイトとミクログリアの血管被覆率を検討した。その結果、アストロサイト終足は毛細血管と直接接触しており、その被覆率は出生後に急速に増加し、P15でプラトーに達し、P30まで変化しなかった。さらに、ミクログリアも毛細血管と直接接触しており、その被覆率は生後増加し、P15で最も高くなり、P30で安定化することが明らかになった。本研究は、傍細胞輸送とグリア細胞の接触変化の観点より、BBB形成期間がP4~P15であることを明らかにした。同時に、BBB形成過程において、ミクログリアが構造的、機能的に重要な役割を果たしている可能性を示した。

B-3-1 マウスの慢性社会ストレスによる行動変化には好中球動員が重要である



○久末 敏博¹、祝 晴¹、石川 由香¹、加藤 太郎²、石井 慎一³、片山 義雄³、田井中 一貴⁴、山口 勇太¹、篠原 亮太¹、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理、²住友ファーマ、³神大病院・血液内科、⁴新潟大・脳研・システム脳病態学

社会または生活習慣に起因する慢性的なストレスは認知情動変容を誘発し、うつ病など精神疾患の発症や再発を促す。中枢神経系のみならず、末梢における炎症反応もうつ病の病態生理に関与すると考えられている。我々はマウスの慢性社会ストレスモデルを用い、ストレスが脳や末梢への持続的な好中球の動員を促すことを示した。しかし、この好中球動員が慢性社会ストレスによる認知情動変容に関与するのかは明らかでない。本研究では、好中球動員に関与するケモカイン受容体であるC-X-Cモチーフ・ケモカイン受容体2(CXCR2)を薬理的に阻害または好中球選択的に欠損させ、慢性社会ストレスによる好中球動員と認知情動変容への関与を検討した。CXCR2阻害薬を慢性社会ストレス中および後に連日投与すると、好中球動員の減弱と共に、認知情動変容の誘導が抑制された。好中球選択的にCreを発現するhMrp8-CreマウスとCxcr2-floxマウスの交配で得られた好中球選択的CXCR2欠損マウスでは、慢性社会ストレスによる認知情動変容が消失することを見出した。また、神経活動レポーターマウスであるArc-dVenusマウスの組織透明化による全脳イメージングにより、慢性社会ストレス中のCXCR2阻害薬の投与は、広域な脳領域で慢性ストレスによるストレス応答性の減弱を抑制することを見出した。以上の結果は、慢性社会ストレスによる神経活動変化や認知情動変容にCXCR2を介した好中球動員が重要であることを示している。

B-3-2 マウスの慢性ストレスによる骨髄・脾臓での遺伝子発現・細胞組成・脂質メディエーターの変化



○堀川 伊和¹、永井 裕崇¹、谷口 将之¹、陳 国威¹、篠原 正和^{2,3}、鈴木 知秀⁴、石井 慎一⁴、片山 義雄⁴、北岡 志保⁵、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理学、²神戸大・院医・分子疫学、³神戸大・院医・質量分析総合センター、⁴神戸大・医学部附属病院・血液内科、⁵兵庫医科大・医・薬理学

ストレスやうつ病の病態においては末梢や中枢の炎症が重要であり、その制御には脂質メディエーターの関与が示唆されている。しかし、ストレスによる炎症応答において脂質メディエーターが担う役割や、脂質メディエーターに生じる変化は殆ど明らかでない。本研究では、成体のC57BL/6Nオスマウスを慢性社会挫折ストレスに供し、急性ストレスや慢性ストレス、慢性ストレス後の休息期間の後に骨髄や脾臓を回収し、トランスクリプトーム解析、フローサイトメトリー解析、リピドーム解析を行うことで、ストレスのタイムコースに応じて造血・免疫器官に生じる遺伝子発現、細胞集団、脂質メディエーターの変化を調べた。骨髄では慢性ストレスによってリンパ球の減少と骨髄系細胞の増加が持続的に誘導され、細胞集団の変化と一致した遺伝子発現変化を示した。遺伝子発現変化は、抗炎症性脂質メディエーターである15-deoxy-d12,14-prostaglandin J2の減少と関連していた。脾臓においても慢性ストレスによってリンパ球の減少と骨髄系細胞の増加が誘導されたが、骨髄と異なり一過性の変化であった。加えて、脾臓においては髄外造血を示す遺伝子発現の変化も認めた。脾臓における細胞集団や遺伝子発現の変化は抗炎症・炎症収束性脂質メディエーターである12-HEPEやレゾルビンの減少と関連していた。これらの結果から、慢性ストレスによって誘導される骨髄と脾臓の免疫反応において、抗炎症・炎症収束性脂質メディエーターが重要な役割を果たすことが示唆された。これらの知見は、内因性脂質メディエーターがストレスやうつ病の免疫機構に果たす役割の解明に資する。

B-3-3 背側縫線核セロトニン神経の活性化は悲観的な意思決定を改善した



○野口 拓馬¹、安藤 千紘¹、西谷 直也²、白川 久志¹、金子 周司¹、永安 一樹¹

¹京都大・院薬・生体機能解析学分野、²金沢大・院医薬保健・薬理学研究室

【背景】うつ病患者の症状の一つに、不運な結果を過大に評価してしまう意思決定の悲観的バイアスが挙げられる。近年、この悲観的な意思決定がセロトニン神経伝達の亢進/減弱により制御されている可能性が示唆されているが、その詳細な機序は未解明である。そこで本研究では、悲観的な意思決定を評価できる確率的逆転学習課題（PRL）を用いて、セロトニン神経伝達の寄与を薬理学的および化学遺伝学的手法を用いて検討した。

【方法】摂食制限を行ったC57BL/6J系雄性マウスを使用した。PRLは餌ペレットを報酬として2レバーオペラント装置を用いて行った。訓練期間終了後、正しいレバーを押しても報酬が得られない確率（pPCR）を0, 0.1, 0.2, 0.3の各条件に設定し、薬物処置後に30分間のテストを行った。悲観的な意思決定の指標として、正しいレバーを押したが報酬が得られなかった時、反対のレバーにシフトする割合（Negative Feedback Sensitivity；NFS）を用いた。薬物投与時の神経活動性の変化はc-fosの免疫染色により評価した。

【結果・考察】抗うつ薬（SSRI）であるcitalopram（10 mg/kg, i.p.）を投与したところ、pPCR = 0.1, 0.2の時のNFSが有意に低下した。またこの時、意思決定に深く関与する内側眼窩前頭皮質（mOFC）においてc-fos陽性細胞数が増加していた。さらに、逆行性トレーサーであるRetrobeadsをmOFCに局所投与した検討から、mOFCが主要なセロトニン神経核である、背側縫線核および正中縫線核の双方から神経投射を受けていることが示唆された。それぞれの縫線核において活性型人工受容体であるhM3Dqをセロトニン神経特異的に発現させ、リガンドであるdeschloroclozapin（1.0 μg/kg i.p.）を投与してセロトニン神経を活性化させた。その結果、正中縫線核セロトニン神経の活性化はNFSに有意な影響を与えなかった一方で、背側縫線核セロトニン神経の活性化によりNFSが有意に低下した。以上の結果は、背側縫線核から内側眼窩前頭皮質へのセロトニン神経投射の活性化がうつ病患者で見られる意思決定の悲観化を改善する可能性を示唆している。

B-3-4 幻覚薬DOIを用いたマウス大脳皮質におけるメゾスケールのカルシウムイメージング

○新谷 勇介¹、中井 信裕¹、早田 敦子^{2,3,4}、橋本 均^{2,3,5,6,7}、内匠 透¹

¹神戸大・医学研究科・生理学分野、²大阪大・院薬・薬理、³大阪大・院歯・薬理、⁴大阪大・院医・連合小児、⁵大阪大・データビリティフロンティア機構、⁶大阪大・先導的学際研究機構、⁷大阪大・院医・薬理

【研究背景】

リゼルギン酸ジエチルアミド (LSD) やシロシビン、±2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine hydrochloride (DOI) などの幻覚薬は、使用者に一時的な幸福感をもたらすと同時に、幻覚体験を引き起こす。これら幻覚薬により、視覚野や聴覚野、体性感覚野などの大脳皮質の神経活動が促進されることから、大脳皮質の活動異常が幻覚の原因である可能性が考えられている。しかし、大脳皮質のどの領域の活動異常が幻覚体験に必要なかどうかは明らかにはなっていない。本研究では、メゾスケールの大脳皮質カルシウムイメージング法と、薬理遺伝学的手法を用いた行動薬理学解析を実施することで、幻覚の分子基盤の理解を深めることを目的とした。

【方法】

カルシウムセンサータンパク質 GCaMP6f を大脳皮質に広範に発現する Emx-Cre/Ai95 ダブルトランスジェニックマウスにDOI を腹腔内投与し、大脳皮質のカルシウム応答の変化を観察した。また、薬理遺伝学的手法により、DOIにより惹起されるマウスの首振り応答に聴覚野の神経活動が与える影響を解析した。

【結果・考察】

DOIの投与により、運動野や聴覚野、体性感覚野と他の皮質領域の神経結合性が増加することを見出した。また、聴覚野の薬理遺伝学的抑制は、DOIにより惹起されるマウスの首振り応答を有意に抑制した。これらの結果から、マウスの幻覚様行動において聴覚野が重要な役割を果たしている可能性が示された。今後、より詳細な行動薬理学解析・神経生理学解析を実施することで、幻覚体験における聴覚野の役割が詳細に明らかになり、本研究成果が幻覚の神経基盤の理解が深まることが期待される。

B-3-5 FADS1/2遺伝子欠損による双極性障害モデルマウスの表面妥当性と神経機能の評価

○窪田 悠力¹、Hadler Sristy²、河谷 昌泰²、衣笠 智裕³、周 昕竹¹、張 心健¹、坪井 大輔⁴、毛利 彰宏⁵、吉本 潤一郎³、貝淵 弘三⁴、岩田 伸生⁶、山下 貴之²、永井 拓¹

¹藤田医科大・精神・神経病態解明センター・神経行動薬理学、²藤田医科大・医・生理学II講座、³藤田医科大・医・医用データ科学講座、⁴藤田医科大・医科学研究センター・神経・腫瘍のシグナル解析プロジェクト、⁵藤田医科大・院保健・レギュラトリーサイエンス、⁶藤田医科大・医・精神神経科学

【目的】近年、精神疾患全ゲノム関連解析 (GWAS) によりfatty acid desaturase 1/2 (FADS1/2) が双極性障害の関連遺伝子として同定された。FADS1/2は多価不飽和脂肪酸代謝においてドコサヘキサエン酸およびエイコサペンタエン酸の合成に重要な酵素である。FADS1/2ヘテロ遺伝子欠損 (FADS1/2 KO) マウスでは、双極性障害の躁病およびうつ病様エピソードを模倣する輪回し行動の変化が認められている。しかしながら、FADS1/2 KOマウスにおける情動および認知機能については不明である。本研究では、行動テストバッテリーによりFADS1/2 KOマウスにおける双極性障害モデル動物の表面妥当性を評価した。また、脳スライスを用いた電気生理学的解析によりFADS1/2 KOマウスの神経伝達機能を評価した。

【方法】情動機能は社会性行動試験および強制水泳試験、認知機能は新奇物体認知試験、Y迷路試験およびT迷路試験で評価した。内側前頭前皮質 (mPFC) の脳スライス標本を用いて、第2/3層に存在する錐体細胞から興奮性シナプス後電流 (EPSC) と抑制性シナプス後電流 (IPSC) をパッチクランプ法により記録し、興奮性-抑制性のバランス (E/I balance) を解析した。

【結果】野生型マウスと比較して、FADS1/2 KOマウスでは強制水泳試験の無動時間が延長し、Y迷路試験の自発的交替行動およびT迷路試験の正答率が減少した。新奇物体認知試験の探索嗜好性に有意な変化は認められなかったが、総探索時間がFADS1/2 KOマウスで増加した。社会性行動は両群間に有意な変化が認められなかった。FADS1/2 KOマウスのmPFC錐体細胞ではEPSCの発火頻度が減少し、E/I balanceが抑制側へシフトした。

【考察】FADS1/2 KOマウスでは、うつ様行動、物に対する過度な興味と好奇心、作業記憶障害など双極性障害に関連する行動障害が認められたことから双極性障害モデル動物としての表面妥当性が示された。E/I balance が抑制側にシフトしていることからmPFCの活動低下が示唆された。現在、ケモジェネティクス法を用いてFADS1/2 KOマウスの行動表現型とmPFCの活動低下との間の因果関係について解析を進めている。

B-3-6 Phosphodiesterase 4D のアロステリック阻害は学習によって活性化されるシグナル経路と関連した記憶亢進作用を示す

○神尾 航平^{1,2}、宮本 啓補¹、蒲原 智絵¹、畝村 千恵¹、吾郷 由希夫²、堀口 直剛¹

¹塩野義製薬・NS 3G、²広島大・院医（歯）・細胞分子薬理

【背景と目的】Phosphodiesterase 4 (PDE4)のサブファミリーのうち、PDE4Dに選択的に作用するPDE4D negative allosteric modulator (NAM)は、非臨床試験においてPDE4阻害薬と同様に記憶能を向上させるが、他のPDE4阻害薬で問題となる嘔吐の出現が少ないことが報告されている。しかし、PDE4D NAMのcAMP代謝に対する作用と認知機能、嘔吐との関係についての詳細は不明である。そこで、代表的なPDE4D NAMであるD159687を用いて、記憶、嘔気に対するPDE4D NAMの作用と、海馬CA1領域におけるcAMPシグナル経路に対する作用を解析した。【結果】恐怖条件付け学習試験において、D159687は3 mg/kgの用量で文脈記憶の亢進作用を示したが、より低用量の0.3 mg/kg、高用量の30 mg/kgでは亢進作用はみられなかった。この二相性の反応は、スコポラミン誘発の健忘モデルにおいても認められた。次に、嘔吐のスクリーニングモデルであるketamine/xylazine誘発の麻酔時間に対する作用を解析したところ、高用量の30 mg/kgのD159687を投与した場合にのみ麻酔時間が短縮し、嘔気様行動が確認された。記憶亢進作用を示した3 mg/kgのD159687は、ホームケージ内でマウスに投与した際にはcAMP濃度を変動させず、学習刺激と併用することでcAMP濃度を増加させた。一方、高用量の30 mg/kgは、ホームケージ、学習刺激時ともにcAMP濃度を増加させた。cAMP/PKA経路の下流に位置し、記憶形成に関わるCREB、SNAPおよびNR2Aタンパク質のリン酸化について検討したところ、3 mg/kgのD159687は学習刺激後のCREB、SNAP、NR2Aのリン酸化を増加させたが、30 mg/kgでは変化はみられなかった。【結論】PDE4D NAMによるcAMP濃度の学習依存性な調節が記憶亢進作用に重要であること、またそれはCREB、SNAP、NR2Aのリン酸化といったシグナル経路の活性化と関連していることが明らかになった。本研究から、PDE4D NAMの投与量を学習時にのみcAMP濃度が増加する用量域に設定することで、副作用の発現を抑え、記憶能を向上させる有効な治療法の確立につながる可能性が示された。

一般演題要旨

C会場

C-1-1 左心性疾患に伴う肺高血圧症モデルマウスにおけるカルシウムシグナルの亢進



○松本 和幸¹、近藤 るびい¹、鈴木 良明¹、山村 彩²、山村 寿男¹

¹名古屋市立大・院薬・細胞分子薬効解析、²愛知医科大・医・生理

【背景】肺高血圧症(PH)は、慢性的に肺動脈圧が上昇する予後不良の難治性疾患である。PHの臨床分類第1群は、肺動脈性肺高血圧症(PAH)で難病に指定されている。PAHの主な病因は、肺動脈平滑筋細胞(PASMCs)の過剰な増殖による肺血管リモデリングである。PASMCsの増殖は、細胞質Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_{cyt})の上昇により誘発される。PAHのPASMCsでは、Ca²⁺透過性チャネルの発現や機能変化により、Ca²⁺シグナルが亢進する。第2群は、左心性疾患に伴う肺高血圧症(PH-LHD)でPHの中で最も患者数が多い。PH-LHDのPASMCsにおけるイオンチャネルの発現や機能変化、Ca²⁺シグナルとの関連は明らかになっていない。本研究では、PH-LHDモデルマウスを作製し、イオンチャネルを介した細胞内Ca²⁺シグナルとの関連を検討した。

【結果】PH-LHDモデルマウスは横行大動脈縮窄術(TAC)により作製した。TACマウスでは、PHの特徴である肺血管の中膜肥厚(肺血管リモデリング)および右室収縮期圧の上昇が認められた。次に、PAHにおいて発現亢進するストア作動性Ca²⁺(SOC)チャネルの発現解析を行った。リアルタイムPCRの結果、TACマウス肺動脈平滑筋において、Orai1/2、STIM1/2、TRPC6のmRNA発現が上昇していた。また、ウエスタンブロットの結果、Orai1タンパク質の発現上昇が認められた。そこで、TACマウスからPASMCsを急性単離して、[Ca²⁺]_{cyt}変化を可視化解析した。その結果、静止時[Ca²⁺]_{cyt}の上昇とストア作動性Ca²⁺流入(SOCE)の増大が認められた。最後に、SOCEが細胞増殖に与える影響を明らかにするため、TACマウス初代培養PASMCsを用いて、細胞増殖アッセイを行った。その結果、PASMCsの増殖は、Orai1阻害薬CM4620、TRPC6阻害薬 SAR7334、SOCE阻害薬 YM58483により抑制された。

【結論】PH-LHDモデルマウスであるTACマウスのPASMCsでは、SOCチャネルを介したSOCEがCa²⁺シグナルを亢進させ、細胞増殖に寄与することが示唆された。本研究成果は、PH-LHDの病態機構の解明やイオンチャネルを標的とした新規PH-LHD治療薬の創製に繋がることが期待される。

C-1-2 可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激薬が虚血性急性腎障害に及ぼす影響



○村本 聡史、中川 恵輔、杉山 美羽、井上 悠、佐々木 里真、北條 賢太郎、田和 正志、大喜多 守

大阪医科薬科大・薬・病態分子薬理

【背景・目的】急性腎障害(AKI)における腎機能低下は一過性であり、完治可能な病態であるとも考えられてきたが、AKIの20~30%が慢性腎臓病へ移行し、透析導入されるケースが極めて多いため、AKIに対する治療薬の開発が喫緊の課題である。可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)は一酸化窒素の受容体として働き、cGMPを産生することで血管拡張作用や抗炎症作用など多彩な生理作用を発揮する。AKIの中でも虚血性AKIは、過剰な活性酸素種の産生や再灌流時のCa²⁺過負荷に伴う腎動脈の血管収縮が病態形成の一因であると考えられている。そのため、血管拡張作用を有するsGC刺激薬は虚血性AKIに対し保護効果を示す可能性が考えられる。そこで本研究では、虚血性AKIに対するsGC刺激薬BAY 41-2272虚血前投与の影響を検討した。

【方法】8週齢の雄性SDラットを実験に供した。右腎摘出より2週間の回復期間を設け、その後左腎動静脈をクレンメにより45分間阻血し、次いで再灌流(クレンメを除去)することで虚血性AKIモデルを作製した。BAY 41-2272(100, 300および500 μg/kg)は虚血5分前に頸静脈より投与した。一部の実験では、BAY 41-2272投与の影響がsGCに依存しているか否かを調べるために、sGC阻害薬ODQ(5 mg/kg)をBAY 41-2272投与30分前に同様の方法で投与した。再灌流24時間後から5時間の採尿を行い、その後の剖検において血液および左腎を摘出し各種評価に供した。

【結果】虚血再灌流(IR)処置は腎機能マーカーである血漿クレアチニンの増加およびクレアチニンクリアランスの低下を引き起こし、BAY 41-2272 100 μg/kg投与は大きな影響を与えなかったが、300および500 μg/kg投与は明らかな改善効果を示した。またIR処置により生じた腎組織障害(蛋白円柱、鬱血・出血および尿細管壊死)は、腎機能障害と同様に、BAY 41-2272投与により用量依存的に抑制された。加えて、ODQ前投与は上述したBAY 41-2272の腎保護効果を部分的にキャンセルした。

【考察】sGC刺激薬BAY 41-2272の虚血前投与は、腎IRに伴う腎機能障害ならびに腎組織障害に対して、顕著な病態改善効果を発揮した。加えてその改善効果はODQ前投与により一部抑制されたことから、BAY 41-2272投与による腎保護効果はsGCに依存していることも明らかとなった。

C-1-3 Roxadustatがラット胸部大動脈の血管緊張調節に及ぼす影響

○中川 恵輔、大柴 依子、田和 正志、大喜多 守

大阪医科薬科大・薬・病態分子薬理

新たな腎性貧血治療薬として、低酸素誘導因子 (HIF) -プロリン水酸化酵素 (PH) 阻害薬が開発され、臨床で広く使用されている。数年前に実施された臨床試験では、HIF-PH阻害薬roxadustat (Rox) は造血作用だけではなく、軽度な降圧作用を有することも示された。しかしながら、Roxが血管緊張調節に与える影響については明らかになっていないため、本研究ではこの点についてラット胸部大動脈を用いてマグヌス法により検討した。その結果、Rox (1-100 μM) 曝露は血管内皮の有無に関わらず濃度依存的な弛緩作用を引き起こしたが、この作用は内皮除去により明らかに減弱した。加えて、一酸化窒素 (NO) 合成酵素阻害薬L-NAME (100 μM)、可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) 阻害薬ODQ (10 μM) およびブラジキニンB2受容体阻害薬icatibant (1 μM) の前処置によっても、Rox誘発血管弛緩反応は有意に抑制された。すなわち、Roxは血管内皮に発現するブラジキニンB2受容体を介することで内皮型NO合成酵素を刺激し、次いでNO/sGC経路が活性化される可能性が示唆された。またRoxの血管平滑筋に対する影響を検討したところ、内皮除去標本に対する非選択的カリウムチャネル阻害薬tetraethylammonium (10 mM) の前処置は、Rox誘発血管弛緩反応をほぼ完全に消失させた。このことから、Roxは血管平滑筋のカリウムチャネルを開口させて血管弛緩を引き起こすことも明らかとなった。さらに血管収縮に対するRoxの影響を評価したところ、Rox前処置はphenylephrine (1 nM-1 μM) およびangiotensin II (内皮存在下: 0.1 μM 、内皮除去標本: 0.01 μM) 誘発血管収縮を血管内皮の有無に関わらず有意に抑制した。なお、他のHIF-PH阻害薬 (daprodustat, enarodustatおよびvadadustat) とRoxの血管弛緩効力を比較すると、Rox > vadadustat > enarodustat > daprodustat (ほぼ弛緩せず) の順で強かった。

以上の結果から、Roxは造血作用だけではなく、血管系においては血管内皮および血管平滑筋の両方に作用することで血管緊張調節に影響を与えることが明らかとなった。ただし、他のHIF-PH阻害薬ではRoxと同程度の血管弛緩は得られなかったことやRoxの反応が極めてacuteであることを考慮すると、RoxはHIF安定化と無関係のオフターゲットを有していることが考えられるため、この点に関しては今後詳細な検討が必要である。

C-1-4 タバコ煙抽出物(CSE)は、ラットおよびヒトiPSC由来心筋細胞において細胞内Ca²⁺動態異常とミトコンドリア機能障害を介して、収縮・拍動障害および細胞死を誘導する

○安田 純平、松村 早季子、納富 拓也、陳 以珊、西谷 (中村) 友重

和歌山県立医科大・医・薬理学講座

【背景】喫煙は動脈硬化や虚血性心疾患などの循環器疾患の主要な危険因子である。その原因の1つとして血管内皮障害などの間接的影響が指摘されている。しかし、喫煙物質が心筋細胞に及ぼす直接的な影響やその細胞内機序については不明な点が多い。本研究では、CSEが心筋細胞の収縮機能や細胞内Ca²⁺動態、ミトコンドリア機能に及ぼす影響を、ラット由来の培養または急性単離心室筋細胞およびヒトiPSC由来心筋細胞を用いて検討した。

【方法】CSEは市販タバコ (hi-lite) より調整したものを使用した。培養心筋細胞は生後1日齢のSprague-Dawleyラット心室筋より単離し、3日後に自動拍動することを確認した。急性単離心室筋細胞は7-9週齢オスラットより単離した。培養心筋細胞の生存率はMTSアッセイおよびカルセイン蛍光観察により測定した。また培養心筋細胞の自動拍動数および急性単離心筋細胞の収縮率、細胞内Ca²⁺動態はCell Motion Imaging Systemによって解析した。さらに共焦点レーザー顕微鏡を用いて、ミトコンドリア由来活性酸素種 (ROS) 産生、ミトコンドリア膜電位とミトコンドリア膜遷移孔の開口、シトクロムc局在を蛍光観察した。

【結果】0.1%以上のCSEは濃度・時間依存的にラット培養心筋細胞の自発拍動速度および生存率を低下させた。また、1% CSEは単離心筋細胞の収縮率を低下させた。同様の収縮不全・拍動不全はヒトiPSC由来心筋細胞でも観察された。一方、1% CSEは細胞内Ca²⁺トランジェントを増大させ、不規則なCa²⁺トランジェント発生頻度を増加させた。動態解析の結果から、CSEは筋小胞体 (SR) へのCa²⁺取り込みを促進させ、SRにおけるCa²⁺の異常な流入/放出を促す可能性が示唆された。またCSEは、細胞内Ca²⁺動態異常に続発するミトコンドリア障害イベントである、ミトコンドリア由来ROS産生、ミトコンドリア膜電位の低下、ミトコンドリア膜遷移孔の開口を誘導した。さらにCSEは、細胞死誘導シグナルである、ミトコンドリアからのシトクロムc放出を惹起した。

【考察】以上の結果から、CSEは心筋細胞において細胞内Ca²⁺動態異常を引き起こし、それに伴うミトコンドリア機能異常を介して心筋細胞の収縮機能障害および細胞死をもたらすことが明らかとなった。

C-1-5 希少糖アリトールは生体内で浸透圧活性を有する



○大藪 公平、Hossain Akram、藤澤 良秀、Rahman Asadur、北田 研人、西山 成

香川大・医・薬理学

【目的】希少糖とは自然界に微量しか存在しない単糖とその誘導体である。糖質の中には、グルコース、マンニトール、ソルビトールなど生体内で浸透圧活性を有するものがあることが知られているが、希少糖については不明である。本研究では、希少糖アリトールの浸透圧活性を *in vitro* および *in vivo* で検討した。

【方法】培養ヒト肝細胞癌細胞 (HepG2) において、浸透圧ストレス応答因子である浸透圧感受性エンハンサー結合蛋白質 (TonEBP) の浸透圧特異的活性を、ルシフェラーゼによるレポーターシステムで測定した。また、9-11週齢の雄性Sprague-Dawleyラットに対して5% (274 mM) 及び20% (1096 mM) アリトール溶液の静脈内投与を、6週齢の雄性C57BL6Jマウスに対して7日間3%アリトール溶液の飲水投与を行い、尿量・尿濃縮能、体内電解質・水分バランスなどを評価した。

【結果】HepG2細胞において、100 mMアリトールは同濃度のグルコースやマンニトールに比して、浸透圧応答依存性TonEBPルシフェラーゼ活性を有意に増強した。麻酔下ラットに対してアリトールを静脈内投与すると、尿量の増加、尿浸透圧の低下が生じ、浸透圧利尿の特徴が認められた。一方、マウスにアリトールを継続的に飲水投与すると軟便を認め、代償的に尿量は減少傾向を示し、結果的に、全身の水分、ナトリウム、カリウム含量には影響を与えなかった。

【考察】以上の結果より、アリトールは生体内で浸透圧活性を有しており、静脈内投与の場合は浸透圧利尿が、経口投与の場合は腸からの水排泄増加が誘導されることが示唆され、体液過剰や便秘などに有効である可能性が考えられた。

C-1-6 慢性血栓塞栓性肺高血圧症におけるhistidine-rich glycoproteinおよびsoluble receptor for advanced glycation end-productsの量的変動

○出石 恭久^{1,2}、木山 和子²、小川 愛子²、北村 佳久¹、松原 広己^{2,3}

¹就実大・薬・薬物治療学、²岡山医療セ・臨研、³岡山医療セ・循内

【背景】慢性血栓塞栓性肺高血圧症 (chronic thromboembolic pulmonary hypertension : CTEPH) は肺動脈特異的な閉塞病変により、右心不全に至る難治性疾患である。CTEPHは早期診断による早期治療が生命予後を改善する。しかしながら、本疾患は特異的な自覚症状が存在せず、早期診断が難しいため治療まで時間を要する事も少なくない。そのため、新たな視点に基づく病態の指標が必要とされている。近年、CTEPHの病態形成に炎症が関与している事が示唆されていることから、本研究ではCTEPH症例の血漿を用いて様々な凝固線溶系や免疫、炎症時の生体反応調節を行っているhistidine-rich glycoprotein (HRG) および健康な肺に高発現して炎症を惹起する受容体の可溶性分子種であるsoluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE) について、CTEPHの治療前後の量的変動について検討した。

【方法】岡山医療センター循環器内科で2011年1月以降にバルーン肺動脈形成術が行われたCTEPH患者のうち、平均肺動脈圧(mean pulmonary arterial pressure : mPAP) が40mmHg以上の重症例で治療後のmPAPが25mmHg未満と顕著に改善した33症例を対象とし、治療前後の血漿中のHRGとsRAGEをELISA法により測定した。さらに、対照として健康者33例についても同様にHRGとsRAGEを測定した。健康者ではHRGは年齢と有意な正の相関を示したことから、HRGにおける健康者とCTEPH症例の解析では全例解析に加えて傾向スコアマッチング法を用いて年齢によるバイアスを調整した解析を行った。一方、sRAGEは年齢および性別と統計学的に有意な関係性が認められなかったため全例で解析を行った。

【結果】健康者に対しCTEPH症例ではHRGが有意に低値を示したが、sRAGEは健康者と比較してCTEPH症例で有意に高値を示した。さらに、治療前と比較して治療後のHRGは有意に上昇し、健康者と同等のレベルとなった。一方、sRAGEも有意に低下し、健康者と同等のレベルとなった。

【考察】重症度の高いCTEPH患者は、健康者と比較してHRGは低値を示しsRAGEは高値を示すこと、さらに治療後の顕著なmPAPの改善により両因子とも健康者と同じレベルになることが明らかとなった。本研究結果より、HRGとsRAGEは重症度の高いCTEPHの治療により変動する血漿中の分子である可能性が示唆された。

C-1-7 一酸化窒素がアデニン腎障害ラットのインドキシル硫酸産生増加におよぼす影響

○小淵 修平、鄭 慶実、林 優成、山崎 怜奈、上田 晴康

兵庫医科大・薬・薬理

【背景・目的】

血管内皮障害は慢性腎臓病（CKD）における心腎症候群の主要な悪化因子であることが知られている。我々は、CKDモデルであるアデニン腎障害ラットの血管機能障害には尿毒素であるインドキシル硫酸（IS）の血中濃度増加が密接に関与することを報告した。ISによる血管機能障害メカニズムを解析する目的で、同ラットに抗酸化薬を処置したところ、血管機能障害の改善がみられたが、IS濃度上昇も抑制された。このことから酸化ストレスがIS産生に関与している可能性が考えられた。さらにIS産生に対する酸化ストレスの関与を、S9mixを用いて検討する中で、一酸化窒素（NO）がIS産生を強く抑制することを発見した。そこで本研究では、NOがアデニン腎障害ラットのIS産生および血管機能におよぼす影響を検討することを目的とした。

【方法】

アデニン腎障害ラットはSDラットに0.75%アデニン食を4週間摂餌させることにより作製した。アデニン摂餌2週間後にNO供与体として亜硝酸塩を30 mg, 100 mg/Lとなるよう飲水投与した。アデニン摂取4週後に麻酔下で右大腿動静脈にカテーテルをそれぞれ挿入し、血圧の測定および薬物の投与を行った。無処置および各種処置薬存在下におけるアデニン食群と亜硝酸塩処置群のアセチルコリン（ACh）およびニトロプルシドナトリウム（SNP）による血圧下降を比較することで血管内皮および平滑筋機能について解析した。また2週間ごとに採血採尿を行い、得られた血液・尿より各種腎機能パラメータを測定した。

【結果】

亜硝酸塩100 mg/L処置によりアデニン腎障害ラットにおける血中インドキシル硫酸濃度の増加は抑制された。アデニン食群および亜硝酸塩群においてNO合成阻害薬であるニトロアルギニン（L-NA）処置によりAChの血圧下降は変化しなかった。COX阻害薬とL-NA処置下におけるAChによる血圧下降はアデニン食と比較して亜硝酸塩処置群では増加する傾向がみられた。アデニン食と比較して亜硝酸塩100 mg/L処置群ではSNPによる血圧下降は有意に増大した。

【結論】

亜硝酸塩はアデニン腎障害ラットでみられたIS産生増加を抑制することで、障害された血管内皮由来過分極（EDH）ならびに血管平滑筋機能を改善すると考えられた。

C-2-1 抗がん剤vincristine誘起末梢神経障害の発現におけるマクロファージおよびSchwann細胞由来HMGB1と局所血液凝固系の相反する役割



○迫 桃子¹、青木葉 優衣¹、谷津 健太¹、関口 富美子¹、坪田 真帆¹、友野 靖子²、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・創薬研究推進

我々は、化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）の発症に、核内タンパク質high mobility group box 1（HMGB1）の細胞外放出が関与すること、またHMGB1を放出する細胞は、抗がん薬の種類によって異なることを明らかにしている。一方、thrombin（TB）は、内皮thrombomodulin（TM）依存性にHMGB1を分解しCIPN発症に対して抑制的に働くほか、TB受容体PAR1を活性化することで炎症性疼痛を抑制することを報告している。また、外科的な傷害を受けた坐骨神経（SN）では、その周辺局所においてthrombin産生亢進が起こることが他のグループから報告されている。今回は、vincristine（VCR）によるCIPN発症におけるマクロファージ（Mφ）およびSchwann細胞（SC）由来HMGB1の役割とthrombinの影響、さらにSN由来SCにおける凝固因子発現・遊離に及ぼすVCRの効果を検討した。マウスにおいてVCR 0.2 mg/kgを1～2週間反復腹腔内投与することでCIPNが発症し、これは抗HMGB1中和抗体、可溶性TM（TMα）、MφからのHMGB1遊離を抑制するethyl pyruvateあるいはMφ枯渴薬liposomal clodronateにより抑制された。TB受容体PAR1遮断薬vorapaxarはVCRによるCIPN発症に全く影響しなかった。マウスMφ由来RAW264.7細胞および成熟分化させた新生ラットSN由来SCにおいて、VCRはそれぞれ100 nMおよび10 nM以上でHMGB1の細胞外放出を誘起した。VCR刺激SC細胞では、成熟SCマーカーであるmyelin basic protein（MBP）のmRNA発現低下とtissue factor（TF）のmRNA発現増加および細胞外放出が認められたが、第II、VIIおよびX因子のmRNA発現量は変化しなかった。VCR刺激したMφおよびSC細胞の培養上清に放出されたHMGB1は、TB 10-20 U/mLを添加することで4時間後にはほとんど分解された。以上より、VCRによるCIPNの発症には、MφとSCに由来するHMGB1が関与し、VCRに暴露されたSCでは脱分化とともにTFの発現誘導と細胞外放出がおり、神経周囲で局所的に産生されたTBがHMGB1を分解することでCIPN発症に対して抑制的に働いているのではないかと考えられる。

C-2-2 HMG-CoA還元酵素阻害剤はGSTを介して抗がん剤誘発性機械的刺激応答閾値低下を改善する

○相澤 風花^{1,2}、岡林 亜美²、森山 大嗣²、八木 健太^{2,3}、新村 貴博^{2,3}、合田 光寛^{1,2}、石澤 有紀^{2,4}、川田 敬^{2,5}、石澤 啓介^{1,2,3}

¹徳島大学病院・薬剤部、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・総合臨床研究センター、⁴医療法人 倚山会・田岡病院・総合臨床科、⁵徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野

【背景】抗がん剤使用で生じる末梢神経障害(PN)は有効な支持療法薬に乏しく、抗がん剤治療を中断させる要因の1つである。重度のPNは抗がん剤治療再開が困難であり、患者の生命予後に悪影響を及ぼすことが指摘されている。我々は、HMG-CoA還元酵素阻害剤(HRI)に神経障害抑制作用があることを見出している。HRIは本来の脂質異常是正作用以外に多様な薬理作用を有するが、抗がん剤誘発性PN抑制のメカニズムについては不明である。Glutathione-*s*-transferase(GST)は酸化還元反応に関与するほか、中枢神経系における神経の発生や保護に寄与している。本研究ではHRIのPN抑制機構におけるGSTの関与について検討した。

【方法】C57BL6/J系統マウス(雄性、8週齢)に抗がん剤としてoxaliplatinまたはpaclitaxelを投与しPNモデルマウスを作製した。各HRI(simvastatin, atorvastatin, rosuvastatin)は1日1回経口投与した。抗がん剤投与後の冷刺激応答・機械刺激応答変化はacetone testおよびvon Frey testによって評価した。機械的刺激応答におけるGSTの関与はGST阻害剤であるethacrynic acidをHRI投与同日から1日1回7日間反復腹腔内投与し、von Frey testにて評価した。また、Cascade Eyeを用いたパスウェイ解析により、PN発現メカニズムにおけるGST関連因子を網羅的に探索した。

【結果】Oxaliplatinまたはpaclitaxel投与後の冷刺激応答閾値は、各HRIの投与による影響は認められなかった。一方で、抗がん剤投与後の機械的応答閾値はvehicle群と比較して、抗がん剤の累積投与量依存的かつ有意に低下した。さらに、抗がん剤投与と同時にまたは抗がん剤投与7日目からの各HRI反復経口投与は、抗がん剤単独群の機械的刺激応答閾値の低下を有意に改善した。HRI投与による機械的刺激応答閾値改善作用は、7日間のethacrynic acid併用によってoxaliplatinおよびpaclitaxel群いずれにおいても消失した。また、パスウェイ解析によって109のPN原因性遺伝子が抽出され、GSTの下流因子としてIL1βおよびIL13が抽出された。

【考察】HRIによる抗がん剤誘発性PN抑制はGSTを介していることが明らかになった。また、このGSTシグナルには炎症応答に関連するIL1β及びIL13の関与が示唆された。

C-2-3 マクロファージ・ミクログリアの性差と神経障害性疼痛形成機構

○雑賀 史浩^{1,2}、木口 倫一²

¹宝塚医療大学・和歌山保健医療学部・リハビリ、²和歌山県立医科大・薬・生体機能解析学

神経障害性疼痛の分子基盤には傷害末梢神経や脊髄後角における慢性炎症が重要な役割を担うが、中でも特にマクロファージ・ミクログリアの関与が注目されている。そして近年では、痛みの調節におけるマクロファージ・ミクログリアの役割には性差があることを示す報告が増加している。本研究では、マクロファージ・ミクログリア阻害薬であるPLX3397を用い、神経障害性疼痛に及ぼすその影響と性差の有無について検討した。

坐骨神経部分結紮モデルマウスでは雌雄共に機械的アロディニアが惹起され、傷害坐骨神経および脊髄後角においてマクロファージ・ミクログリアの集積が認められた。PLX3397含有飼料を坐骨神経部分結紮モデルマウスに摂取させると、雄マウスでの機械的アロディニアは抑制されたが、雌マウスではそのような抑制効果が認められなかった。

PLX3397が脊髄後角のミクログリア数に及ぼす影響を評価したところ、雌マウスでは雄マウスと比較してミクログリアが多く残存していた。そこでPLX3397の効果の性差に及ぼすアンドロゲンの関与を明らかにするため、精巣を全摘出した雄マウスを用いて同様の実験を行った。精巣摘出から4週間後における血清テストステロン濃度は検出限界以下に低下しており、そのような条件下では雌マウスと同様にPLX3397による抗アロディニア効果が消失した。また精巣全摘出マウスのミクログリア数に及ぼすPLX3397の影響を評価すると、雌マウスと同様に、対照の雄マウスよりも多く残存していた。

その一方で、傷害坐骨神経のマクロファージに及ぼすPLX3397の影響を評価したところ、マクロファージの残存率はミクログリアと比較して雌雄共に大きく、性差やアンドロゲン依存性も観察されなかった。さらにマクロファージが産生する炎症性因子の阻害薬を傷害坐骨神経周囲に局所投与すると、雌雄共に機械的アロディニアが抑制された。以上の結果より、脊髄ミクログリアにはアンドロゲン依存的な性差が形成されるが、末梢マクロファージには性差が認められず、雌雄共に痛みの増悪に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

C-2-4 変形性膝関節症での疼痛遷延化に対する海馬ミクログリアの活性変化の関与



○山本 健太、中島 一恵、中村 庸輝、森岡 徳光

広島大・院医系・薬効解析

【背景・目的】変形性膝関節症（OA）は関節の炎症と軟骨基質の分解を示す慢性変性疾患である。根治療法として、人工膝関節置換術が行われるが、施術を受けた約30%の患者において疼痛が遷延化することが示されている。それ故、OAにより疼痛が遷延化する原因の解明が求められている。

ミクログリアは脳内の恒常性維持を担い、活性化により炎症反応を惹起する細胞である。また、様々な慢性疼痛モデルにおいて、ミクログリアが痛みの遷延化に関与することが報告されている。当研究室の過去の報告において、OAモデルマウスでは疼痛と膝関節軟骨の損傷が病態発症の初期から持続的に生じている一方で、海馬ミクログリアの活性化は遅発的に認められることから、疼痛の遷延化に海馬ミクログリアが関連する可能性を示した。そこで本研究では、OAでの疼痛発症に対する海馬ミクログリアの役割について、さらに検討を行った。

【方法】 ddY 系雄性マウス（7週齢）の左膝関節腔内にmonoiodoacetate（MIA）（1.0 mg）を投与することでOAモデルを作製した。MIA投与5週後において、ミクログリアを除去するコロニー刺激因子-1受容体阻害薬PLX3397の配合飼料、または通常飼料をそれぞれ7日間自由に摂食させた。また同様に、ミクログリア枯渇剤のclodronate liposome、またはcontrol liposomeをそれぞれ右側海馬へ単回局所投与した。疼痛評価はvon Frey Testを用いて機械的刺激に対する逃避閾値を測定した。ミクログリア活性は各種検診の後に脳凍結切片を作製し、ionized calcium binding molecular 1及びtransmembrane protein 119に対する抗体を用いた免疫組織化学染色法により解析した。

【結果・考察】疼痛に対するミクログリアの関与を検討するためにPLX3397を全身的に処置した結果、海馬ミクログリアが減少し、疼痛も有意に改善された。そこで、海馬ミクログリアの関与を検討するためにclodronate liposomeを海馬局所的に投与した結果、投与5日後において海馬ミクログリアが減少し、疼痛も有意に改善された。以上の結果から、海馬ミクログリアの活性化が疼痛の遷延化に重要な役割を果たすことが示唆された。

C-2-5 ジンジバリス菌由来リポ多糖類(LPS)刺激によるミクログリアにおけるIL-1b産生に対するb-ディフェンシン3の抑制メカニズムの解析



○井上 瑛里加¹、湊崎 紫陽¹、小田 康祐²、野中 さおり²、中西 博²

¹安田女子大・薬、²安田女子大・薬・薬理学分野

【目的】IL-1bは、他の炎症性メディエーターの産生誘発にも関与する重要な炎症性サイトカインである。以前の研究で、唾液抗菌ペプチドの一種であるb-ディフェンシン3がジンジバリス菌LPSにより活性化したミクログリアにおいて遅発性に誘導されるIL-6ならびに一酸化窒素の産生を有意に抑制することを報告した（Inoue et al., In J Mol Sci. 23, 15099, 2022）。そこで本研究では、b-ディフェンシン3のジンジバリス菌LPS刺激によるミクログリアにおけるIL-1b産生に及ぼす作用を解析した。

【方法・結果】（1）NanoLucルシフェラーゼ遺伝子とCL1-PEST分解シグナル配列をIL-1bプロペプチド領域を介して結合した融合遺伝子をIL-1b遺伝子プロモーター下流に連結したBV-2ミクログリアを用い、成熟型IL-1bのレポーターアッセイを行なった。その結果、ジンジバリス菌LPS刺激によるIL-1b産生は、Toll様受容体2（TLR2）阻害薬C29ならびにIkBキナーゼ阻害薬wedelolactoneにより有意に抑制された。一方、NLRP3インフラマソーム阻害薬MCC950の影響は受けなかった。（2）b-ディフェンシン3ならびにCA-074Meは、ジンジバリス菌LPS刺激によるIL-1b産生を有意に抑制した。一方、カテプシンB特異的阻害薬ZLLRならびにレンチウイルスshRNA導入によるカテプシンBノックダウンは、影響を及ぼさなかった。（3）b-ディフェンシン3ならびにCA-074Meは、ジンジバリス菌LPS刺激に伴うNF- κ B p65核移行ならびにIkBa分解を有意に抑制した。（4）タンパク質構造解析ソフトAlphaFold2を用い、b-ディフェンシン3とカテプシンBならびにLとの結合様式を解析した。その結果、b-ディフェンシン3はカテプシンBの活性部位と強固に結合することが予測されたが、カテプシンLの活性部位との結合は比較的弱いことが予測された。

【考察】カテプシンBならびにLは、ジンジバリス菌LPS刺激によるミクログリアにおけるプロ型IL-1b産生に関与することが示唆された。b-ディフェンシン3は、カテプシンBならびにLの酵素活性を阻害することでジンジバリス菌LPSにより誘導されるIL-1b産生を抑制することが明らかになった。今後、プロ型IL-1bの成熟型へのプロセッシングにおけるカテプシンBならびにLの関与、さらにb-ディフェンシン3の抑制作用について検討したい。

C-2-6 代表的な歯周病菌「ジンジバリス菌」が分泌する外膜ベシクル(OMV)による脳ならびに腸バリア機能の破綻メカニズムの解明

○野中 さおり、中西 博

安田女子大・薬

代表的な歯周病菌であるジンジバリス菌の感染は、アルツハイマー病の増悪因子であることが近年の臨床研究から明らかとなっており、私たちは、アルツハイマー病の原因は、感染症を発端とした脳炎症であると仮説を立て検証している。そのメカニズムとしては、(1)歯周組織から全身循環系に入ったジンジバリス菌やその病原性因子が脳実質に侵入して脳炎症を惹起することや、(2)唾液と共に飲み込まれたジンジバリス菌やその病原性因子が腸内細菌叢を攪乱させ、さらに腸のバリア機能が破綻した結果、漏れ出した腸内細菌やその代謝産物によって脳炎症が惹起されることが想定されている。このためには、ジンジバリス菌または、その病原性因子が血液脳関門や腸上皮バリアを破綻させる可能性が考えられる。私たちはその解明に取り組んだ。まず、ジンジバリス菌の培養上清をヒト脳血管内皮細胞株(hCMEC/D3細胞)に添加すると、密着結合構成タンパク質であるZO-1及びオクルディンの減少を伴った細胞層の透過性の上昇が起こり、その効果はジンジバリス菌が産生分泌するプロテアーゼの「ジンジパイン」に依存することがわかった。さらに、ジンジパインが直接ZO-1やオクルディンの細胞内領域を分解することがわかった。そこで、ジンジパインが細胞内に入ってこれらの分子を分解すると予想し、ジンジバリス菌が分泌するouter membrane vesicles (OMVs)に着目した。OMVはグラム陰性細菌が外膜から切り出して分泌する小胞であり、脂溶性が高く、ジンジバリス菌のOMVにはジンジパインも結合していることから、そのキャリアとして働いていると考えられる。免疫組織学的解析から、ジンジパインの結合したOMVが脳血管内皮細胞内に侵入できることが明らかとなり、ジンジパインはOMVと共に脳血管内皮細胞内に入り込み、細胞質側からZO-1やオクルディンを分解することで血液脳関門を破壊すると考えられた。さらなる解析により、ヒト腸上皮細胞株(Caco-2細胞)に対してもジンジパインはOMVを介した同様の仕組みで腸上皮バリアも破綻させることが明らかになった。以上のジンジバリス菌OMVによる脳及び腸バリア破綻の仕組みは、ジンジバリス菌がもたらすアルツハイマー病の増悪に深く関与していると考えられる。

C-3-1 ランソプラゾールはイソニアジドによる肝障害を軽減する



○大瀧 翔太¹、若井 恵里¹、白水 崇¹、小岩 純子¹、田丸 智巳²、西村 有平¹

¹三重大・医・統合薬理学、²三重大学医学部附属病院・臨床研究開発センター

イソニアジドは結核治療の第一選択薬である。しかし、イソニアジドは重篤な肝細胞障害や急性肝不全を引き起こしうる。現状ではイソニアジド誘発性肝障害を予防できる、レベルの高いエビデンスの得られた治療法は確立されていない。本研究では、さまざまなマウス系統におけるイソニアジド感受性の違いを解析した公共トランスクリプトームデータを起点として、イソニアジド誘発性肝障害を軽減する併用薬の探索を試みた。まず、イソニアジド誘発性肝障害を起こしやすい3系統のマウスに共通する発現変動遺伝子(イソニアジド誘発性肝障害の遺伝子発現シグネチャー)を同定した。この遺伝子発現シグネチャーを逆向きに变化させる薬物をConnectivity Mapを用いて同定した。また、ヒト有害事象自発報告データベースを用いて、イソニアジド服用患者における肝障害の報告オッズ比を低下させる併用薬を同定した。13種類の薬物が共通して同定され、その中にランソプラゾールが含まれていた。ゼブラフィッシュを用いて、イソニアジドによる肝細胞アポトーシスをランソプラゾールが抑制すること、イソニアジドによる小胞体ストレスや炎症をランソプラゾールが軽減する可能性を明らかにした。さらに、三重大学病院の電子カルテ情報を用いて、イソニアジドを投与された患者における肝機能をランソプラゾール内服群と非内服群で比較したところ、ランソプラゾール内服群の肝障害マーカー(AST, ALT)が非内服群に比べて有意に低いことを見出した。これらの結果は、ランソプラゾールがイソニアジド誘発性肝障害を軽減することを示唆している。本研究手法は、他の薬物性肝障害に対する治療薬の探索にも活用できると考えられる。

C-3-2 非アルコール性脂肪性肝疾患モデルに対するD-cysteineの効果

○関 貴弘^{1,2}、那須 健斗²、前田 仁志³、今野 歩⁴、人羅 菜津子²、倉内 祐樹²、平井 宏和⁴、渡邊 博志⁵、丸山 徹³、香月 博志²

¹姫路獨協大・薬・薬理、²熊本大院・生命・薬物活性、³熊本大院・生命・薬剤、⁴群馬大院・医・脳神経再生、⁵熊本大院・生命・医療情報

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、アルコールの消費量に関係なく、肝臓に脂質が蓄積する肝疾患である。約25%と高い有病率を示し、肝硬変・肝癌のリスクを高めるが、根本的な治療法は未だ確立されていない。近年、NAFLDに対して、硫化水素が保護効果を示すことが報告された。硫化水素は有毒物質であるが、生体内でも微量に産生され、組織保護効果を示す。D体アミノ酸であるD-cysteineはD-amino acid oxidase (DAO)で代謝され、硫化水素が産生される。DAOは小脳・肝臓・腎臓に選択的に発現し、D-cysteineはこれら臓器選択的な硫化水素ドナーとして働くと思定される。我々は最近、D-cysteineが脊髄小脳失調症発症を抑制することを解明した。以上の背景から、D-cysteineが肝臓での硫化水素産生を介してNAFLDへの保護的効果を示すと想定し、本研究ではNAFLDモデル細胞及びマウスに対するD-cysteineの効果を解析した。NAFLDモデル細胞として、ヒト肝癌細胞株であるHepG2細胞へのパルミチン酸処置を用いた。NAFLDモデル細胞では活性酸素種 (ROS)の増大が観察され、D-CysteineはこのROS増大を有意に抑制した。この抑制効果はDAO阻害薬の共処置により減弱したことから、D-cysteineはDAOを介した硫化水素産生により、NAFLDモデル細胞におけるROS産生を抑制することが示唆された。続いて、NAFLDモデルマウスでの解析を行った。マウスはヒトと異なり肝臓でDAOが発現していないため、ウイルスベクターを用いた肝臓選択的遺伝子導入により、肝臓DAO発現マウスを作製した。このマウスにメチオニン減量コリン欠乏高脂肪食 (HFLMCD) を摂取させることでNAFLDモデルマウスとした。HFLMCD摂取開始と同時に生理食塩水もしくはD-cysteineを連日経口投与した。生理食塩水投与NAFLDモデルマウスでは肝障害マーカーである血中AST、ALTの上昇が観察されたが、D-cysteine慢投与はその上昇を有意に抑制した。肝臓の組織学的解析の結果、NAFLDモデルマウスにおける脂肪滴蓄積がD-cysteine投与により有意に軽減した。以上の結果から、D-cysteineはNAFLDの病状進行を抑制する効果を示すことが明らかとなった。

C-3-3 シトリン欠損症患者由来iPS細胞を用いた尿素サイクル異常症の病態肝モデル作製

○人見 浩史¹、岡野 舞^{1,2}、下村 優衣¹、金子 一成²

¹関西医科大・医・iPS再生医学、²関西医科大・医・小児科

【背景】シトリン欠損症 (CD) はSLC25A13遺伝子の異常であり、常染色体潜性遺伝である。シトリンは、主に肝臓のミトコンドリア膜のアスパラギン酸・グルタミン酸の輸送体タンパク質である。シトリンが欠損することで、尿素サイクルだけでなく、細胞質内のNADH/NAD⁺が過剰となり、解糖系、糖新生、エネルギー産生の障害も生じる。症状は病期により2つに分かれ、新生児から乳児の病型であるNICCD期は肝内胆汁うっ滞、肝障害、多種アミノ酸血症などを呈し、成人期の成人発症II型シトルリン血症 (CTLN2) は、意識障害、急性脳症様症状、精神症状で発症し、高アンモニア血症、高シトルリン血症、脂肪肝を呈し、一旦発症すると重篤な経過をたどり、肝移植が必要となる場合があり、根治療法が渴望されている。

【目的】CD患者から樹立したiPS細胞が、先天性尿素サイクル異常症の病態肝モデルとして使用できるか、ヒトiPS細胞由来肝細胞 (HLC) に分化し評価し、さらに治療について検討した。

【方法】CD患者からiPS細胞を樹立し、HLCへ分化誘導を行う。それらのHLCを用いて、CTLN2の発症を予防する薬剤、ピルビン酸の負荷を行い、培地のアンモニア値で評価した。

【結果】2名のCD患者からiPS細胞を樹立し、G-Bandの異常がないこと、未分化・多能性マーカー、シーケンスでそれぞれの患者の遺伝子異常を確認した。健常者由来iPS細胞とCD-iPS細胞からHLCへの分化誘導を行い、PCR・免疫染色・Western blottingでAlb、AFP、ASGR、HNF4 α などの発現を確認しHLCに分化出来ていることを確認した。HLCの段階で、培養液中にNH₄Clを加え、培養液を回収し、代謝されたアンモニア値を測定した。健常者HLCは経時的にアンモニア濃度が低下するが、CD-HLCでは低下を認めなかった。また、ピルビン酸を10mM、100mMの濃度で負荷しNH₄Clを加えると、CD-HLCではピルビン酸の濃度依存性にアンモニア濃度の低下を認めたが、健常者HLCでは有意な低下は認められなかった。

【考察】CD-iPS細胞を用いて、HLCへの分化を誘導することにより、尿素サイクル障害の病態を検討した。CD-HLCは、健常者HLCと比較してアンモニア代謝が不十分であった。ピルビン酸はCD-HLCでのみアンモニアを有意に低下させた。これらの所見は、ピルビン酸がCD患者に対する効率的な治療法である可能性を示唆している。ヒトiPS細胞から得られたこれらの尿素サイクル欠損症モデルは、尿素サイクル欠損症患者の病態研究や新規治療法の開発に有用なツールである。

C-3-4 ケモカイン受容体CCR6はIL-17A産生細胞の遊走を介して劇症肝炎病態を制御する



○坂東 政充、原 雄大、竹中 美貴、松尾 一彦、中山 隆志

近畿大・薬・化学療法学研究室

【背景・目的】CCR6は、制御性T細胞（Treg）、Th17細胞および γ δ T細胞に選択的に発現しているケモカイン受容体である。CCL20をリガンドとし、これらの細胞の遊走を介して、種々の病態の制御に寄与する。劇症肝炎は、急速かつ大規模な肝細胞の壊死が生じ、極めて死亡率が高い疾患である。これまでに、慢性肝炎患者の急性増悪時や劇症肝炎モデルマウスにおいて、CCR6やCCL20の発現が増加することが報告されている。しかしながら、CCR6-CCL20系の病態学的な意義は未だ明らかとなっていない。当研究室では、劇症肝炎におけるCCR6-CCL20系の役割を研究しており、劇症肝炎モデルマウスの肝臓においてCCL20が増加すること、CCR6欠損マウスでは、野生型マウスと比べ、血清ALT値および死亡率が減少することをこれまでに見出している。しかしながら、CCR6欠損マウスでみられた病態の変化の詳細については不明である。本研究では、CCR6-CCL20系を介した肝臓への免疫細胞の遊走制御機構の解明を行った。

【方法】実験には、オスのC57BL/6Nマウスを用いた。劇症肝炎病態は、D-galactosamine (300 mg/kg) およびLPS (1 μ g/kg) を腹腔内投与することで誘導した。投与6時間後にサンプルを回収し、免疫細胞の浸潤はフローサイトメトリー法にて、サイトカインの発現はELISA法にて解析した。

【結果・考察】CCR6欠損マウス肝臓では、Tregの浸潤に変化はなかった。一方、Th17細胞および γ δ T細胞の浸潤がCCR6欠損マウスで減少した。また特に、 γ δ T細胞は、IL-17Aを産生するサブセットの浸潤が減少していた。さらに、これらの細胞より産生される主要なサイトカインであるIL-17Aの発現量が、CCR6欠損マウス肝臓において顕著に減少した。最後に、抗IL-17A抗体の投与は、劇症肝炎モデルマウスの死亡率を減少させた。以上の結果は、CCR6がIL-17A産生細胞の肝臓への遊走を制御し、劇症肝炎病態を制御する可能性を示すものである。また、CCR6は劇症肝炎の有望な新規治療標的分子となることが示唆される。

C-3-5 低重力下における消化管と骨髄における鉄動態の検討

○池田 康将¹、船本 雅文¹、安田 英紀¹、今西 正樹²、土屋 浩一郎²

¹徳島大・院医歯薬・薬理学、²徳島大・院医歯薬・医薬品機能生化学

【目的】来るべき宇宙時代へ向けて、長期の宇宙滞在により引き起こされる生体恒常性変化についての研究がすすめられている。宇宙環境では筋量・骨量減少に加えて、貧血が生じることも知られており、生体内鉄分布に影響すると考えられる。そのため、宇宙における鉄の至適摂取量は重要課題であるが、そのエビデンスは乏しく、消化管鉄吸収機構の解明が望まれる。しかし、消化管鉄吸収機構については未解明である。本研究では低重力下で飼育されたマウスを用いて消化管と骨髄における鉄動態を検討した。

【方法】JAXA「きぼう」利用マウスサンプルシェアで提供されたマウス消化管と胸骨を使用した。C57BL/6雄マウスを、宇宙で小型遠心機を用いた人工重力1/6Gで飼育した群と、対照として地球重力1Gで飼育した群を比較・検討した。

【結果】十二指腸におけるPerls/DAB染色では、1G飼育群と比較して1/6G飼育群での染色性は減弱していた。FTH、DMT1の免疫組織化学でも1/6G飼育群での染色性が減弱していた。加えて、F4/80によるマクロファージ評価では1/6G飼育群で絨毛内マクロファージ数は減少し、一方、杯細胞数は増加していた。胸骨骨髄の検討では、Perls/DAB染色とFTH免疫組織化学とともに1/6G飼育群で染色性の減弱を認めた。

【結論】低重力下では十二指腸・骨髄の鉄量が減少していることが示唆された。

C-3-6 塩酸誘発性急性肺障害におけるインターロイキン-19の新規的役割について

○東 泰孝

大阪公大・獣医・薬理

【目的】インターロイキン-19(IL-19)はIL-10ファミリーに分類されるサイトカインであり、主としてマクロファージから産生され各種炎症性病態において抗炎症作用を示す。これまでに、肺炎など肺疾患におけるIL-19の役割は明らかにされてこなかったことから、肺疾患におけるIL-19の役割を解明することとした。本研究では急性肺障害におけるIL-19の役割を解明する目的で、IL-19遺伝子欠損マウス(IL-19KO)を用いて塩酸誘発肺障害における肺病態を解析した。

【方法】雄性C57BL/6(8-10週齢)の野生型マウス(WT)およびIL-19KOを用いて、露出させた気管内に塩酸(0.1M)を2 μ L/g投与した。塩酸投与から4時間後に肺を採材した。HE染色を用いて組織学的評価を実施し、定量リアルタイムPCRにより各因子のmRNA発現量を測定した。好中球浸潤およびアポトーシスの検出には免疫組織染色および免疫蛍光染色を各々用いて評価した。

【結果】塩酸投与に伴い、肺胞壁の肥厚ならびに肺胞面積の減少を伴う肺障害が見られた。IL-19KOではWTよりも有意に肺胞面積の減少がみられたことから肺障害は悪化することが明らかとなった。また、IL-19KOではWTよりも有意に肺水腫の悪化および出血の増悪もみられた。MPO陽性割合により好中球浸潤を評価したところ、IL-19KOではWTよりも有意にMPO陽性面積の割合が増加した。定量リアルタイムPCRにより関連する因子のmRNA量を定量したところ、IL-19KOではWTよりも有意に好中球遊走因子であるCXCL1およびIL-6が増加していた。一方、マクロファージのマーカであるF4/80 mRNA発現量はWTとIL-19KOの間で有意な変化は認められなかった。続いて、肺障害により細胞死が起きているかどうか、さらには、アポトーシスが検出されるかどうかを、カスパーゼ3抗体を用いて評価した。WTではカスパーゼ3抗体陽性細胞はほとんど検出されなかったのに対して、IL-19KOではカスパーゼ3抗体陽性細胞が認められ。

【考察】以上の結果より、IL-19KOでは塩酸誘発肺障害による肺障害が増悪することが明らかとなった。また、この増悪には好中球浸潤が主として関わることから、IL-19は好中球が介在する急性炎症に関与する可能性が示唆された。

一般演題要旨

D 会場

D-1-1 Pyruvate dehydrogenase kinase 1は骨肉腫幹細胞の細胞特性を制御する



○田中 優妃、徳村 和也、檜井 栄一

岐阜薬科大・薬・薬理学研究室

目的：骨肉腫は、骨組織を原発巣とする希少がんであり、外科手術や化学療法を組み合わせた治療が行われている。しかし、約40年間治療成績の顕著な改善が認められていない。その原因の1つとして骨肉腫幹細胞（Osteosarcoma stem cell: OSC）の存在が挙げられる。OSCは、幹細胞性と治療抵抗性を有し、治療後も残存したOSCが自己複製や多系統分化を行うことで骨肉腫が再び産生され、再発・転移が引き起こされると考えられている。したがって、骨肉腫根治のためOSCを標的とした新規治療法の開発が希求されている。Pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1) は解糖系関連因子であり、乳がん幹細胞において高発現し、幹細胞性を制御するという報告がある。しかし、OSCにおけるPDK1の機能については明らかではない。本研究では、*in vitro*実験により、OSCにおけるPDK1の機能的解析を行った。

方法：ヒト骨肉腫細胞株143B及びMG63の2種類の細胞株を用いた。各々の細胞にshort hairpin RNAを用い、*PDK1*をノックダウンさせた143B細胞及びMG63細胞を作製した。PDK1がOSCに及ぼす影響を検討するために、自己複製能を評価するSphere formation assay、増殖能を評価するMTT assay、細胞死を評価するApoptosis assayを行った。

結果：143B細胞とMG63細胞の両方において、*PDK1*ノックダウン群では、コントロール群と比較して、Sphere数の減少、増殖能の低下、Apoptosisの上昇が認められた。

考察：PDK1はOSCにおいて、自己複製能、増殖能、細胞死を制御している可能性が示唆された。骨肉腫の根治を目的とした治療法の開発を目指す上で、PDK1が新規治療標的因子となりうる事が期待される。

D-1-2 軟骨無形成症モデルマウスに対するCDK8阻害剤の治療効果の検討



○久保 拓也¹、貞盛 耕生¹、山本 めぐみ²、北尾 達哉²、白波瀬 弘明²、檜井 栄一¹

¹岐阜薬科大・薬・薬理学研究室、²京都薬品工業

【目的】

軟骨無形成症(Achondroplasia: ACH)は、四肢短縮型低身長症を呈する難治性骨系統疾患である。ACHは線維芽細胞増殖因子受容体3 (FGFR3: fibroblast growth factor receptor 3) の変異によってFGFR3シグナル伝達が亢進している。FGFR3シグナルの下流には、signal transducer and activator of transcription (STAT) シグナル伝達経路などが存在する。転写関連CDKファミリーに属するサイクリン依存性キナーゼ8 (CDK8) は、生存、分化および増殖を含む基本的な細胞プロセスの制御に重要な役割を果たすことが報告されている。しかし、ACHの進行におけるCDK8の機能的役割とそのメカニズムは未だ解明されていない。本研究では、*in vitro*及び*in vivo*実験により、ACHに対するCDK8阻害剤KY-065の有効性を検討した。

【方法】

*Col2a1*プロモーター下流に*Fgfr3^{G380R}*変異をもつ遺伝子改変マウスをACHモデルとして使用した。ACHモデルマウス由来の軟骨細胞をKY-065存在下で培養した。軟骨細胞分化能を評価するため、アルシアンブルー染色、アルカリホスファターゼ (ALP) 染色、リアルタイムqPCRおよびウェスタンブロッティングを行った。KY-065をACHモデルマウスに生後3日目から28日間連続で皮下投与した。その後、 μ CT解析と組織学的解析を行った。

【結果】

KY-065処理したACHモデルマウスの軟骨細胞では、アルシアンブルー染色とALP染色の染色性が増強し、軟骨細胞分化マーカーのmRNA発現レベルが有意に増加した。また、KY-065添加は、Erk1/2のリン酸化には影響を与えなかったが、STAT1^{Ser727}のリン酸化を選択的に低下させた。KY-065の連日投与はACHモデルマウスの大腿骨長を有意に伸長させ、大腿骨遠位部の成長板軟骨の厚さと肥大化面積の両方を有意に増加させた。

【考察】

本研究により、CDK8阻害剤KY-065がACHモデルマウスの軟骨細胞の機能を亢進させるとともに長管骨を伸長させることが示された。軟骨細胞におけるCDK8-STAT1^{Ser727}軸がACHの潜在的治療標的であり、CDK8阻害剤がACHの有望な治療薬候補となる可能性が明らかになった。

D-1-3 糖尿病合併心不全に対する漢方薬五苓散の抑制効果



○廣瀬 駿次¹、船本 雅文²、今西 正樹¹、安田 英紀²、池田 康将²、土屋 浩一郎¹

¹徳島大・薬・医薬品機能生化学分野、²徳島大・院医歯薬・薬理学分野

【背景】糖尿病に伴う様々な臓器合併症は患者のQOLを悪化させ予後不良となる。糖尿病合併心不全は糖尿病性心筋症とも呼ばれ、心臓リモデリングに伴う心不全と定義され、特異的治療法はないのが現状である。五苓散は、体液恒常性調節障害の改善に加え、糖尿病が適応症として認められている漢方薬であるが、糖尿病臓器合併症への効果は未知である。本研究では、短期間で作成できる糖尿病合併心不全モデルマウスを確立し、糖尿病合併心不全に対する五苓散の効果について検討した。

【方法】C57BL6/N系統マウス（8週齢，雄性）に、高脂肪食とL-NAME（0.1%）を9週間与え、5週目にSTZ（50mg/kg/day）を5日間連続腹腔内投与することで糖尿病合併心不全モデルを作成した。非糖尿病群、糖尿病合併心不全（D-HF）群、糖尿病（DM）群、L-NAME群の4群で比較検討した。五苓散（Go）は初週から1g/kg/dayを連日経口投与し、他群には等量の滅菌水を投与した。非糖尿病群、糖尿病合併心不全（D-HF）群、糖尿病合併心不全（D-HF）+Go 群の3群で比較検討した。

【結果】D-HF群は、DM群、L-NAME群と比べて、心筋細胞肥大、線維化がみられたことより、モデルとして適当であると確認した。空腹時血糖は、非糖尿病群と比較してD-HF群とD-HF+Go群で高値であったが、両者に差はみられなかった。心エコーでは、D-HF群における左室内径短縮率の低下は、D-HF+Go群では抑制された。D-HF群でみられた心体重比の増加も、D-HF+Go群では抑制された。D-HF群における病理組織での心筋細胞肥大と心肥大関連遺伝子（*Nppa*, *Nppb*）発現増加は、D-HF+Go群で抑制された。D-HF群におけるアポトーシス関連タンパク質（Cleaved Caspase-3）発現の亢進とAktリン酸化の減少は、D-HF+Go群で抑制された。D-HF群におけるPSR染色での間質線維化亢進と線維化関連遺伝子（*Col1*）発現上昇、線維芽細胞活性化指標タンパク質（ α SMA）と脂質過酸化（4-HNE）の増加は、D-HF+Go群で抑制された。一方で、炎症関連遺伝子（*Tnfa*, *Il1b*）の発現はD-HF群とD-HF+Go群で増加したが、差は認めなかった。

【結論】五苓散は糖尿病合併心不全に対する新たな治療薬となることが示唆された。

D-1-4 Single-cell RNA-seq データセットを用いた変形性関節症における細胞老化と糖鎖修飾の関連性の検討



○吉本 誠、徳村 和也、檜井 栄一

岐阜薬科大・薬・薬学科

【目的】変形性関節症（Osteoarthritis: OA）は関節全体に退行性変性が生じる疾患である。これまでに、OAの発症・病態進展には細胞老化および糖鎖修飾がそれぞれ関与していることが報告されているが、両者の相互関係は明らかになっていない。本研究では、OAの発症・進展における細胞老化と糖鎖修飾の関連を明らかにするため、OA患者のsingle-cell RNA-seq データセットを用いたバイオインフォマティクス解析を実施した。

【方法】異なる2種類のOA患者のsingle-cell RNA-seq データセットを用いて解析を行った。患者の軟骨細胞におけるgene set enrichment analysisにより、OAの重症度とOA病態関連シグナルの相関を検証した。また、細胞老化と糖鎖修飾の相関を検討した。次に、軟骨細胞における糖鎖関連遺伝子の発現解析を行った。さらに、発現解析で同定されたPolypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferase（*GALNT*）遺伝子の発現量とOA病態関連シグナルおよび細胞老化との相関を検討した。

【結果】Osteoarthritis Research Society Internationalスコアにおける重症度が高いOA患者の軟骨細胞では、OA病態関連シグナルが亢進していた。さらに、細胞老化と糖鎖修飾には正の相関があり、特にO結合型糖鎖修飾との相関が強いことが示された。2種類のデータセットの軟骨細胞では、共通して7種類のO結合型糖鎖関連遺伝子が発現上昇し、そのうち5種類は*GALNT*遺伝子であった。さらに、*GALNT*遺伝子が高発現している軟骨細胞では、OA病態関連シグナル及び細胞老化が亢進していることが示された。

【考察】本研究により、OA病態下の軟骨細胞において、細胞老化と糖鎖修飾は関連している可能性が示唆された。O結合型糖鎖修飾を担う*GALNT*遺伝子がOAの新規治療標的となることが期待される。

D-1-5 抗PD-L1抗体による炎症性関節炎の滑膜線維芽細胞における病態解明

○細沼 雅弘¹、中野 僚太²、豊田 仁志¹、篠内 良介³、船山 英治³、磯部 晃¹、木内 祐二¹、吉村 清⁴

¹昭和大・医・薬理学講座 医科薬理学部門、²昭和大・薬・基礎医療薬学講座生理学部門、³昭和大・薬・基礎医療薬学講座薬理学部門、⁴昭和大・臨床薬理研究所・臨床免疫腫瘍学部門

がん治療において免疫チェックポイント阻害薬は革新的な治療となったが、免疫関連有害事象の炎症性関節炎や関節リウマチ(RA)患者の関節炎増悪によるQOL低下が課題である。抗PD-1抗体がPD-1/PD-L1シグナル阻害によるT細胞の活性化を誘導するに対し、抗PD-L1抗体はさらにPD-L1への結合による細胞内シグナル伝達が報告されている。しかし関節炎病態に関与する滑膜線維芽細胞に着目した抗PD-L1抗体の関節炎への作用は報告がない。そこで本研究ではSKGマウスに抗PD-L1抗体を投与することで炎症性関節炎モデルを作成し、その表現型を解析した。Mannanで関節炎を誘導したSKGマウスに抗PD-L1抗体250 µgを週3回投与すると、対照群と比較し関節炎スコアの増悪を認めた。一方で抗PD-L1抗体投与を週1回に減量すると、関節炎スコアの増悪を認めずにvon frey testによる疼痛閾値の低下を認めた。in vitro系でRA滑膜線維芽細胞(RA-FLS)におけるPD-L1発現を検討すると、PD-L1発現はmRNA・タンパクレベルで共にTNF α 刺激により上昇した。さらに2例のRA患者由来のRA-FLSを抗PD-L1抗体で処理しbulkRNA-seqで発現変動遺伝子を検討すると、CXCL8/IL-8およびFGF9の発現上昇を認めた。BALB/cマウスの足背へのrmFGF9皮下注射はvon frey testによる疼痛閾値の低下を認めた。以上より、抗PD-L1抗体は、滑膜線維芽細胞の発現するPD-L1に結合し、CXCL8/IL-8産生促進による関節炎増悪およびFGF9産生促進による関節炎疼痛の増悪を誘導する可能性が示唆された。

D-1-6 可溶性グアニル酸シクラーゼ活性化薬のブタ冠動脈および冠静脈に対する弛緩作用の比較

○田和 正志、中川 恵輔、大喜多 守

大阪医科薬科大学・薬・病態分子薬理

虚血性心疾患の治療薬として頻用されている一酸化窒素(NO) 供与薬は生体内でNOを発生させ、還元型(ヘム鉄がFe²⁺) 可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)の酵素活性を上昇させる。一方、近年開発が進められているsGC活性化薬はNO非依存的に酸化型(ヘム鉄がFe³⁺) /アポ(ヘムが脱離)のsGCを活性化するという特徴を有している。NO供与薬の血管弛緩作用は静脈系で強いことが知られているが、sGC活性化薬の作用に動静脈差が存在するのかわか不明である。本研究では、摘出ブタ冠動脈および冠静脈を用いて、この点について検証した。sGC活性化薬であるBAY 60-2770 (1 pM-0.1 µM)は冠動脈および冠静脈のいずれにおいても濃度依存的な弛緩を誘発したが、その作用は冠静脈よりも冠動脈で強かった。一方、NO供与薬であるsodium nitroprusside (SNP、1 nM-0.1 mM)も濃度依存的な弛緩を誘発したが、その作用は冠動脈よりも冠静脈で強かった。なお、プロテインキナーゼG活性化薬である8-Br-cGMP (1 µM-0.3 mM)の反応性には冠動脈と冠静脈間で差はなかった。BAY 60-2770による弛緩作用はヘム鉄酸化薬であるODQ (10 µM)存在下では増強し、冠動脈と冠静脈間で認められた反応性の差は消失した。また、SNPによる弛緩作用は冠動脈および冠静脈のいずれにおいてもODQ存在下では減弱し、両者間の反応性の差はなくなった。NO合成酵素阻害薬であるN^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME、0.1 mM)は冠動脈と冠静脈間におけるBAY 60-2770およびSNPによる弛緩反応の不均一性を解消しなかった。以上の結果から、sGC活性化薬の血管弛緩作用はNO供与薬とは対照的に動脈系で強いことが明らかとなった。これは動脈系が静脈系よりも酸化型/アポsGCを多く発現することに起因するのかもしれない。なお、NOにはsGCのヘム鉄を酸化する作用があり、また、血管内皮から恒常的に分泌されるNO量は静脈系よりも動脈系で多いことが知られているが、この分泌量の違いが動脈系で酸化型/アポsGCの発現が多いことの一因とはならないようである。

D-1-7 フルオロキノロン系抗菌薬による大動脈疾患リスクに関する2つの矛盾

○石澤 有紀^{1,2}、宮田 晃志²、辻中 海斗^{2,3}、糸数 柁人²、宮田 辰巳²、近藤 正輝^{2,3}、新村 貴博^{2,4}、吉岡 俊彦^{2,3}、相澤 風花^{2,3}、八木 健太^{2,4}、川田 敬⁵、合田 光寛^{2,3}、石澤 啓介^{2,3,4}

¹(医)倚山会 田岡病院・総合診療科、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・薬剤部、⁴徳島大学病院・総合臨床研究センター、⁵徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野

フルオロキノロン系抗菌薬は広く使用されている抗菌薬であるが、大動脈瘤や解離といった致死的な血管疾患との関連が指摘され、2018年アメリカ食品医薬品局による警告が出され、本邦でも添付文書中で重大な副作用リスクとして警鐘されている。一方でここ2-3年、相反する知見が散見されはじめ、フルオロキノロン系抗菌薬による大動脈疾患の危険性に関する議論が激化している。そこで本研究の目的は、フルオロキノロン系抗菌薬が真に大動脈疾患のリスクを増加させ得るか否か、基礎薬理的手法および大規模医療情報データベースを用いた検討から明らかにすることである。

基礎薬理学的検討として、培養細胞および大動脈解離易発症モデルマウス (LABマウス) を用いて検討を行った。フルオロキノロンの一種であるレボフロキサシン (LVFX) は、in vitroにおいて内皮細胞傷害を引き起こし、matrix metalloproteinaseを増加させた。しかし、in vivo試験ではエラスチン分解や大動脈解離発生率に有意な影響は認められなかった。さらにLABマウスにおける内皮障害マーカー、ICAM-1、VCAM-1の遺伝子発現に及ぼすLVFXの作用は、大動脈解離発症前後で変化し、発症前はLABマウスで見られるmRNA発現上昇を増悪させたが、発症後のマウス大動脈においてはむしろ抑制傾向を示した。

さらに、実臨床におけるリスクを評価するため有害事象自発報告データベースVigiBaseおよびレセプトデータベースJMDCを用いて解析を行った。VigiBase解析において、フルオロキノロンの使用により、既報と同様大動脈瘤についてリスクシグナルが検出されたが、大動脈解離に限定して解析した場合にはリスクシグナルが検出されなかった。レセプトデータベースJMDCを用いた後ろ向きコホート解析においても、フルオロキノロンの使用は呼吸器感染症患者において有意に大動脈瘤および解離の発症を増加させなかった。

本研究により、フルオロキノロンの血管系への作用に関する2つの矛盾を浮き彫りにした。第一に、LVFXの相反する作用がin vitroとin vivoの試験で、また解離発症の前後で観察された。第二に、データベース解析により、大動脈解離と動脈瘤に対する作用が異なることが明らかになった。フルオロキノロン系抗菌薬による細胞毒性はみられるものの、大動脈解離に限定して検討した場合、生体内、すなわち実臨床における副作用発生リスクの有意な増加は示唆されず、大動脈解離に対する懸念がフルオロキノロンの使用中止を正当化するものではないことが示唆された。

D-2-1 Protein kinase Aが制御するEP4受容体シグナル伝達メカニズムの解明



○柳川 瞬矢¹、東山 晃子¹、福島 圭穰¹、Regan John W²、藤野 裕道¹

¹徳島大・院薬・生命薬理学分野、²Dept. Pharmacol. & Toxicol., Coll. of Pharm., The Univ. of Arizona

【背景・目的】

Gs、Gi型タンパク質に共役するEタイププロスタノイド4 (EP4) 受容体は、プロスタグランジンE₂ (PGE₂) 刺激による活性化により過剰発現し、大腸がん増悪につながるシグナル伝達系を亢進させることが報告されている。また、細胞内第3ループ領域 (ICL3) のセリン残基はGsシグナルを介したprotein kinase A (PKA) の活性化によりリン酸化されることも報告されている。そのためEP4受容体シグナル伝達系においてPKAは重要な役割を担うと考え、PKA阻害が細胞に与える影響に着目して研究を行った。

【方法】

ヒトEP4受容体遺伝子を安定的に発現させたHEK293細胞 (HEK-EP4細胞) に対しPKA阻害薬を前処置し、PGE₂処置後の細胞が引き起こす変化を検討した。細胞内アクチン動態の変化についてはファロイジン染色を行い、共焦点顕微鏡にて観察した。

【結果・考察】

HEK-EP4細胞にPKA阻害を行いPGE₂刺激を行うと細胞形態の変化が認められた。細胞形態変化を引き起こしているHEK-EP4細胞の細胞内アクチン動態を検討したところ、アクチンストレスファイバーの形成が認められた。そこで、ICL3領域のセリン残基をアラニンに変異させPGE₂刺激を行うと、変異導入前と比較してより顕著な細胞形態変化、アクチンストレスファイバーの形成が認められた。

以上の結果より、PKAによるICL3領域のセリン残基のリン酸化がアクチンストレスファイバーの形成、それに伴う細胞形態の変化を制御していることが考えられた。また、今回見られた細胞形態の変化は間葉上皮転換様であり、EP4受容体により活性化したPKAによるICL3のセリン残基のリン酸化の変化が、がんの転移に関わる可能性が考えられた。以上の結果から、EP4受容体シグナル系が惹起するPKAによる詳細な制御メカニズムを解明することで、大腸がんの悪性化のメカニズムのみならず新たな治療ターゲットを提案することができると考えている。

D-2-2 EP4プロスタノイド受容体下流の大腸がん原因因子の同定と誘導メカニズムの解明



○小西 勇夢¹、福島 圭穰²、Regan John W³、藤野 裕道⁴

¹徳島大・院薬・生命薬理学分野、²徳島大・院薬・生命薬理学分野、³The University of Arizona・College of Pharmacy・Department of Pharmacology and Toxicology、⁴徳島大・院薬・生命薬理学分野

【背景・目的】大腸がんは日本における年間死亡数が2番目に多いがん疾患であり、高齢化の進行に伴いその罹患者数および死亡者数の増加が予想される。そのため、大腸がんの予防や治療を見据えたがん発生・悪性化メカニズムの解明は重要であると考えられる。大腸がん組織では、炎症性メディエーターであるプロスタグランジンE₂ (PGE₂)の生産が亢進している。PGE₂は初期大腸がんを高発現しているEP4受容体に作用し、その下流の細胞内シグナルが大腸がんの発生や悪性化を促進していると考えられている。しかし、具体的な因子については十分に明らかになっていない。本研究では、大腸がん細胞における遺伝子応答の網羅的解析とリアルワールドデータ解析を組み合わせることで、治療標的となり得る大腸がん原因因子の探索とその誘導メカニズムの解明を試みた。

【方法】ヒト大腸がんHCA-7細胞をPGE₂で刺激した際の遺伝子応答を、RNAシーケンスを用いて網羅的に解析した。さらに、がんゲノム・ビッグデータを用い、実際のヒト大腸がんにおいて発現が亢進している因子を抽出した。HCA-7細胞のEP4プロスタノイド受容体をPGE₂で刺激し、同定された遺伝子のタンパク質発現量を評価した。さらに、細胞内シグナルの阻害薬を用いることで、EP4受容体下流の誘導メカニズムの解明を試みた。

【結果・考察】PGE₂で刺激したEP4受容体の応答因子のうち、実際のヒト大腸がんでも発現が亢進している因子として補体抑制因子であるCD55を同定した。HCA-7細胞をPGE₂で刺激すると、濃度依存的・時間依存的にCD55のタンパク質発現量が増加した。このPGE₂刺激によるCD55の発現はEP4受容体のアンタゴニストによって阻害され、また、Gsタンパク質の阻害薬では抑制されなかった一方で、Giタンパク質の阻害薬で抑制された。以上の結果より、CD55の発現はEP4受容体下流のがん促進因子であり、Giタンパク質を介したシグナルによって制御されている可能性が考えられた。

D-2-3 ヒト前立腺がんLNCaPスフェロイドモデルにおけるCa²⁺活性化K⁺チャネル阻害によるユビキチンリガーゼFBXW7の活性化

○大矢 進、鬼頭 宏彰、梶栗 潤子、山口 陽平、松井 未来

名古屋市立大・院医

がん抑制遺伝子F-box and WD repeat domain-containing 7 (FBXW7)は、がん幹細胞マーカーのタンパク質分解を促進することにより、がん幹細胞能を低下させる。我々は最近、いくつかのがん細胞の三次元(3D)スフェロイド形成により、FBXW7転写が抑制されることを明らかにした。本研究では、ヒト前立腺がんLNCaP細胞の3次元スフェロイドモデルにおいて、Ca²⁺活性化K⁺チャネルK_{Ca}1.1阻害により、Akt-Nrf2シグナル伝達経路を介してFBXW7転写が活性化されることを見出した。また、K_{Ca}1.1阻害によるFBXW7転写の活性化は、C/EBP δ (CEBPD)の阻害、およびmiR223 mimicの移入により低下した。以上の結果により、LNCaPスフェロイドモデルにおいて、K_{Ca}1.1阻害によるFBXW7転写の活性化は、Akt-Nrf2-CEBPD-miR223系を介して制御されている可能性が示唆された。さらに、K_{Ca}1.1阻害によるFBXW7活性化は、1) K_{Ca}1.1活性の増大と2) がん幹細胞マーカーc-Mycのタンパク質発現低下を惹起した。したがって、K_{Ca}1.1阻害によるFBXW7の転写活性化は、K_{Ca}1.1陽性発現がん細胞におけるがん幹細胞への転換抑制に少なくとも一部関与する可能性が示唆された。

D-2-4 がん細胞におけるアミノ酸トランスポーターLAT1 の阻害はp38 MAPK 活性化を介したサイクリン D1 の下方制御により G0/G1期からS期への移行を抑制する



○Zhou Xinyu¹、大垣 隆一^{1,2}、Jin Chunhuan¹、Xu Minhui¹、岡西 広樹¹、遠藤 仁³、金井 好克^{1,2}

¹大阪大・院医・生体システム薬理、²大阪大・先導的学際研究機構・生命医科学融合フロンティア研究部門、³ジェイファーマ株式会社

大型中性アミノ酸を主な輸送基質とするアミノ酸トランスポーターLAT1 (SLC7A5) は、さまざまな腫瘍組織において発現が亢進している。LAT1選択的阻害剤 nanvuranlat (Nanv; JPH203) は、アミノ酸取り込みの遮断によってがん細胞の成長と増殖を抑制する、新規作用機序の抗悪性腫瘍薬として開発が進められてきた。先行研究では、がん細胞をNanv で処理した際に G0/G1 期の細胞が増加することが報告されているが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで本研究では、Nanvが細胞周期に与える影響と、その背景にある分子機構の解明を試みた。膵臓がんMIA PaCa-2細胞を低血清培地中に培養し、G0/G1期の細胞周期チェックポイントであるRestriction pointで同期させた。その後、通常濃度の血清存在下で培養を開始し、細胞周期の進行を誘導したところ、NanvがG0/G1期からS期への移行を著明に抑制することを見出した。Nanv存在下ではp38 MAPKが持続的に活性化しており、サイクリン D1 のリン酸化依存的プロテアソーム分解経路の亢進によって、S期への移行に重要なサイクリンD1の蓄積が抑制されていた。プロテアソーム阻害薬はサイクリンD1の量を回復させ、Nanvによる細胞周期の停止を解除した。p38 MAPK の4種類のアイソフォームについて特異的ノックダウンを実施したところ、主に α アイソフォームがサイクリンD1の下方制御に寄与していることが明らかになった。NanvによるG0/G1期からS期への移行の阻害、p38 MAPK α アイソフォームの活性化とサイクリンD1の下方制御は、他の膵臓がん細胞株であるAsPC-1やPANC-1においても確認された。また、免疫不全マウスで作製したMIA PaCa-2細胞ゼノグラフト腫瘍モデルにNanvを投与したところ、p38 MAPK のリン酸化が増加し、サイクリン D1 の量が減少した。以上より、NanvがG0/G1 期からS期への移行における細胞周期停止作用を有することが示された。本研究の成果は、Nanvの抗腫瘍効果の基盤となる薬理作用の解明に貢献するとともに、Restriction point下流に位置するアミノ酸依存的細胞周期チェックポイントの分子機構についても重要な知見を与えるものである。

D-2-5 マクロファージの低酸素誘導因子発現が腫瘍組織環境へ与える影響についての検討



○平川 遼、松永 慎司、徳留 健太郎、本間 拓二郎、富田 修平

大阪公立大・医・分子病態薬理学

腫瘍組織内の血管は正常組織の血管性状と異なり、不規則な分枝かつ血管内皮細胞間の密着結合が未熟であるため、血液易漏出性および血流に乏しく、腫瘍組織内では低酸素環境が形成される。細胞の低酸素応答機序の1つとしてプロリン水酸化酵素 (PHD)、低酸素誘導因子 (HIFs)、VHLを介する系がある。免疫細胞におけるHIFの活性化は腫瘍免疫の活性化や腫瘍組織環境形成など腫瘍組織において重要な役割を果たしている。そこで本研究では抗原提示細胞であるマクロファージ (M ϕ) に着目し、M ϕ 特異的HIF-2 α 過剰発現が腫瘍増大および腫瘍内血管形成およびM ϕ 組織浸潤に対し、どのような影響を与えるか検討を行った。

本研究では*Hif-1^{fllox/fllox}*、*Hif-2^{fllox/fllox}*、*Vhl^{fllox/fllox}*、および*LysM-Cre*マウスを用いて実験を行った。マウス腫瘍皮下移植モデルはマウス側腹部にマウス肺癌細胞株であるルイス肺癌細胞株を皮下に移植することにより作製した。腫瘍の体積は腫瘍を計測することにより算出した。腫瘍血管の評価は血管内皮細胞マーカーであるCD31および細胞間密着結合分子マーカーであるZO1の染色により腫瘍内の血管性状について評価を行った。また、遺伝子改変マウスから採取したBMDMを用いたTranswell Assayにより、M ϕ の遊走能を評価した。

M ϕ 特異的HIF-1 α 欠損HIF-2 α 過剰発現マウスにおいて腫瘍増大抑制が認められたが、M ϕ 特異的HIF-1 α 欠損マウスでは腫瘍増大抑制は認められなかった。M ϕ 特異的HIF-1 α 欠損HIF-2 α 過剰発現マウス、M ϕ 特異的HIF1欠損マウスの両方で血管面積および血管1本あたりの占める面積の低下が認められた。M ϕ 特異的HIF-1 α 欠損HIF-2 α 過剰発現マウスでは血管の成熟度の低下が認められたが、M ϕ 特異的HIF1欠損マウスでは認められなかった。またM ϕ 特異的HIF-1 α 欠損HIF-2 α 過剰発現マウスにおいてはM ϕ の遊走能の低下が認められたが、M ϕ 特異的HIF-1欠損マウスでは有意な差は見られなかった。以上のことより、腫瘍内M ϕ においてHIF-2 α 過剰発現は腫瘍の増大抑制およびM ϕ の遊走能に寄与することが示唆された。また、腫瘍内M ϕ のHIF-1 α は腫瘍内血管形成に寄与することが示唆された。

D-2-6 Bcr-Abl阻害剤に対する慢性骨髄性白血病細胞の耐性獲得メカニズムの探索

○八木 健太¹、今若 清香²、高岡 麻佑²、岡本 尚大^{2,3}、相澤 風花^{2,3}、新村 貴博^{1,2}、合田 光寛^{2,3}、川田 敬^{2,4}、石澤 有紀^{2,5}、石澤 啓介^{1,2,3}

¹徳島大学病院・総合臨床研究センター、²徳島大・院医歯薬・臨床薬理学分野、³徳島大学病院・薬剤部、⁴徳島大・院医歯薬・臨床薬学実務教育学分野、⁵医療法人倚山会・田岡病院・総合臨床科

【目的】慢性骨髄性白血病（CML）はBcr-Abl遺伝子が発症の主たる原因であり、imatinibをはじめとするBcr-Abl阻害剤が劇的な効果を発揮する。しかし一部の症例では耐性を獲得し、Bcr-Abl阻害剤による治療継続が困難となる。Bcr-Abl阻害剤の有効性を維持するためには、がん細胞の耐性獲得機構の解明が必須である。耐性獲得の機序の一つとして、Bcr-Abl遺伝子の点突然変異による、Bcr-Abl阻害剤の標的蛋白への結合阻害が知られている。しかし、点突然変異以外にも耐性の原因は存在する。近年上市したasciminibは、従来のBcr-Abl阻害剤と異なるBcr-Abl阻害機序を有し耐性克服に有用な薬剤として期待されている。しかしながら、薬剤耐性機構は多岐にわたるため、とくに点突然変異以外の耐性化に対するasciminib有効性には不明な点が多い。そこで本研究では、Bcr-Abl阻害剤に耐性をもつCML細胞株を樹立しasciminibの有効性および薬剤耐性機序について検討した。

【方法】ヒトCML細胞株であるK562細胞にimatinibを長期間曝露し、imatinib耐性K562細胞（K562-IR ①, ②, ③）を作製した。K562-IRを用いてasciminib単独およびimatinib併用時の細胞生存率の変化をWST-8 assayを用いて検討した。フローサイトメトリーを用いてAnnexin VおよびPIを用いたアポトーシスや細胞周期の解析を行なった。各耐性株における点突然変異はRNAシーケンシング法を用いて確認し、RNAseqおよびリアルタイムPCRを用いて薬剤耐性に関連する遺伝子変異を網羅的に解析した。

【結果】Imatinib非耐性株であるK562において、asciminib曝露により濃度依存的に細胞生存率が低下した。Imatinibとasciminib併用は、imatinib耐性の有無にかかわらず相乗効果が認められた。しかし、いずれのK562-IRにおいても非耐性株と比較して、asciminibのIC₅₀は上昇した。点突然変異のないK562-IR③では薬剤排出トランスポーターABCB1, ABCG2の遺伝子発現の上昇がみられたが、imatinibおよびasciminibの曝露時の細胞生存率の低下は各トランスポーター阻害剤に影響されなかった。そこで、RNA seqによる網羅的解析によって、耐性化に関与する可能性のある3遺伝子を見出した。3遺伝子のうち、細胞の分化に関与する遺伝子であるGRRP1の発現は、K562-IR③において有意に減少した。

【考察】Asciminibは、imatinibと併用する事で抗がん作用が高まることを見出した。一方で、imatinibに薬剤耐性を獲得した細胞に対しては、asciminibでも有効性が低下する可能性が示唆された。その耐性化メカニズムには、GRRP1が関与している可能性がある。

D-3-1 S-ニトロシル化修飾によるG3BP1のストレス顆粒形成制御と細胞保護作用



○伊藤 和、久保田 翔、高杉 展正、上原 孝

岡山大学・院医歯薬・薬効解析学

【背景・目的】一酸化窒素（NO）は生体内のシグナル伝達物質として働き、生理的・ストレス条件下において様々な機能調節を担っている。NOの作用機序の一つとして、タンパク質システインチオール基をS-ニトロシル化（SNO化）し、様々なタンパク質の機能を制御することが報告されている。当研究室では、タンパク質がSNO化を受け、酵素活性や機能が変化することを明らかにしてきた。また、酸化ストレスや熱ショックなどのストレスにตอบสนองして、液-液相分離により細胞質で一過性に形成するストレス顆粒（SG）は、細胞保護作用を示すことが知られている。その一方で、分解されない異常なSGを介した凝集体形成が神経変性疾患の発症に関与することが示唆されており、病態下のSG動態に関する多くは未解明である。そこで、本研究ではG3BP1のSNO化を介したSG動態の変化及び、NO誘発性SGの細胞死への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】ヒト神経芽細胞腫SH-SY5Y細胞、HeLa細胞にNO供与体を処理した。G3BP1のSNO化形成はBiotin-switch assayにより評価した。また、SGはG3BP1の蛍光免疫染色により解析した。位相差観察による形態変化とHoechst染色での核凝縮により細胞死を評価した。

【結果・考察】G3BP1のSNO化の有無を検証したところ、NO処理濃度依存的にSNO化が認められ、時間とともにそのレベルが低下することがわかった。また、SNO化が観察された条件下で、NO処理濃度依存的にSG形成が誘導され、G3BP1のCys73がNOの標的であることがわかった。次にG3BP1 C73S過剰発現細胞にNOを処理したところ、G3BP1 WTと比較してSG形成が抑制された。続いて、TDP-43の発現により誘導される細胞死に、NO誘発性のSGが影響を与えるか否かを検証した。その結果、比較的低濃度のNO処理により、G3BP1 WTとTDP-43を共発現させた細胞において、TDP-43のSG内局在が増加し、細胞死が抑制されることが明らかとなった。以上より、G3BP1はSNO化修飾を介してSG形成を促進し、SG内にTDP-43を取り込むことで、細胞毒性を軽減していることが示唆された。

D-3-2 IRE1 α 特異的酸化修飾阻害薬の開発とその抗細胞死効果



○黒木 春那¹、Zhang Kam²、Kumar Ashutosh²、阿部 匠³、澤田 大介³、上原 孝¹

¹岡山大・院医歯薬・薬効解析学、²理研・生命機能科学研究セ・構造バイオインフォマティクス、³岡山大・院医歯薬・精密有機合成化学

【背景・目的】神経変性疾患の発症メカニズムが種々提唱される中、その実行因子として、加齢や炎症によって産生が増大する一酸化窒素 (NO) が注目されてきた。NOは、システインチオール基への酸化修飾 (S-ニトロシル化) を介して様々なタンパク質の機能を調節することが知られている。当研究室では新規NO標的分子として小胞体ストレスセンサーIRE1 α を同定し、IRE1 α のRNase活性がS-ニトロシル化によって低下することで、細胞死が誘発されることを明らかにした。さらに、パーキンソン病様症状を引き起こすMPP⁺処理によっても、IRE1 α RNase活性は阻害されることを見出している。MPP⁺は、NOの産生を介して神経細胞死を惹起することが報告されている。したがって、NOによるIRE1 α 活性低下をコントロールすることが細胞死回避に重要であると推定された。本研究では、IRE1 α のS-ニトロシル化を特異的に抑制する阻害薬を開発し、その抗細胞死効果を検証した。

【方法】IRE1 α のS-ニトロシル化部位を標的とする化合物は、化合物ライブラリーから*in silico*ドッキングシミュレーションによって探索した。IRE1 α のS-ニトロシル化は、ビオチンスイッチ法によって評価した。IRE1 α のRNase活性は、基質である*Xbp1*の切断型mRNA (*Xbp1s*) 量をRT-PCR法で検出し、評価した。細胞死は、全細胞に対するヨウ化プロピジウム (PI) 陽性細胞の割合を細胞死亡率として算出し、評価した。

【結果】二回のスクリーニングを経て、IRE1 α 選択的なS-ニトロシル化を阻害する化合物Xを単離した。IRE1 α のRNase活性依存的に産生される*Xbp1s*は、細胞生存に重要である。化合物Xは、NOドナーによる*Xbp1s*発現低下を有意に抑制する一方で、NOドナー未処理時の*Xbp1s*の増減には影響しなかった。以上より、化合物XはIRE1 α のRNase活性そのものに影響をすることなく、S-ニトロシル化に伴う活性低下を阻止することが示唆された。さらに、NOドナーやMPP⁺によって誘導した細胞死に対する化合物Xの効果を検証したところ、濃度依存的に細胞死が減少することがわかった。本研究から、IRE1 α のS-ニトロシル化阻害薬として単離した化合物Xは、NO依存的な細胞死に対して保護的に働くことが明らかになった。

D-3-3 パルミトイル化修飾酵素DHHCタンパク質の新規活性測定法の開発と機能解析

○足立 直子¹、Hess Douglas T.²、上山 健彦¹

¹神戸大・バイオシグナル総合研究センター・分子薬理分野、²Case Western Reserve University・ITMM

脂質修飾の一つであるパルミトイル化修飾はパルミチン酸がタンパク質のシステイン残基のチオール基に付加される可逆的な翻訳後修飾で、修飾を受けたタンパク質は疎水性が上昇し、細胞膜や細胞内小器官膜への親和性が上がる。これまでに2000以上のタンパク質がこの修飾を受けることが知られており、この修飾機構の破綻は神経疾患や免疫疾患、加えて、様々ながんに関連することが報告されている。パルミトイル化修飾の責任酵素であるDHHCタンパク質は、ヒトでは23種同定されている。DHHCタンパク質群は、細胞内でパルミトイル-CoAを用いて、活性中心部位に存在するシステイン残基を自己パルミトイル化し、続いて基質タンパク質のシステイン残基にパルミトイル基を転移する。DHHC酵素の活性状態は、自己パルミトイル化されたDHHC酵素を検出することでモニターできるが、これまでの手法では膜貫通タンパク質であるDHHC酵素を多量に精製する必要があったことから、DHHC酵素の大半で未解析のままであった。

今回我々は、自己パルミトイル化DHHC酵素を簡便に短時間で、更に、低コストに検出する手法を開発した。本研究によりDHHC酵素の活性は様々な翻訳後修飾により制御され、活性状態には酵素間で大きな違いがあることが判明した。加えて、がん患者より同定されたDHHC酵素の変異をスクリーニングしたところ、自己パルミトイル化能が大きく低下し、不活性化された変異DHHC酵素を発見した。本手法により、パルミトイル化修飾酵素DHHCタンパク質の機能解析が大きく前進し、パルミトイル化修飾が関与する様々な病因の解明が期待できる。

D-3-4 トリコプレインによる一次線毛形成制御の組織損傷再生における役割について

○白水 崇、稲垣 昌樹、西村 有平

三重大・院医

細胞膜上に存在する小さな不動性の突起である一次線毛 (Primary cilia) は細胞内外のシグナル伝達に働き、その構造形成やシグナル伝達の機能に関する遺伝子の異常は線毛病と呼ばれる一連の疾患を引き起こすことが知られている。一次線毛の形成制御に関わる遺伝子の一つであるトリコプレイン (TCHP) は一次線毛基部の基底小体に局在し、オーロラAキナーゼの活性化を介して一次線毛形成の抑制因子として機能する。このTCHPを介した一次線毛の形成制御については、細胞周期進行や間葉系幹細胞の分化に関わるということが明らかになっているが、その詳細な分子メカニズムについては未だ不明な点が多い。そこで本研究ではTCHPノックアウトゼブラフィッシュを作成し、組織レベルにおけるTCHPの機能を調べるとともに、プロテオーム解析による網羅的な一次線毛シグナル伝達関連因子の同定を試みた。作成したTCHPノックアウトゼブラフィッシュは、ヒレ組織の損傷再生実験において、野生型よりも高い再生能力を示した。また、再生中のヒレ組織を用いた定量的プロテオーム解析では8756のタンパク質が同定され、ノックアウトと野生型の間で発現変動があるものとして、186タンパク質が同定された。また、これらプロテオームデータを用いたオントロジー解析では、細胞増殖や分化に関わる遺伝子とともに、新たなシグナル分子の関与も示唆された。本発表では、同定された新規一次線毛シグナル関連分子のゼブラフィッシュを用いた機能解析について報告する。

D-3-5 高速スキャン型スペckルノイズ変調OCTによるイメージ像の鮮明化

○太田 岳¹、小野 和也¹、日比野 浩^{1,2}

¹大阪大・院医・薬理学講座統合薬理学、²AMED・AMED-CREST

空気の振動である音は、哺乳類の鼓膜・耳小骨を介して、渦巻き型の末梢受容器「内耳蝸牛」に機械的刺激として入力される。この臓器内部のシート様組織である「感覚上皮帯」は、渦の底から頂上にかけてその厚さ・幅・硬さが単調に変化し、この物理的な性質の差を利用して場所ごとに周波数を選び分け、ナノ振動する。この微小な動きは、上皮上に分布するセンサー細胞の動作によって、小さな音ほどよりよく増幅される。内耳は、多種多様な細胞が絡み合って複雑な構造体を形成しており、この増幅機構の詳細はまだ十分に理解されていない。しかしながら、わずかな侵襲であっても臓器機能が損なわれてしまうため、分析が困難であった。そこで2006年から、光断層撮像法を応用した *in vivo* 形態解析、さらに同手法による感覚上皮帯のナノ振動計測が実施されてきた。しかしながら、麻酔下の生きた動物における計測においては、光エコーのスキャン中に拍動や自発呼吸による動きノイズが混入しやすく、積算して得られる断層画像にはしばしばそれらに由来した解像度の低下が確認される。そこで本研究では、サンプル上における単位時間あたりの反射光量を高め、1回あたり10 ms未満の高速スキャンによる撮像を実施した。さらに連続した2枚のイメージペアを複数用意し、それらを画像鮮明化に特化した機械学習モデルに適用したところ、シングルショット画像から背景ノイズが除去された。本手法の活用により、動きノイズの影響を受けにくい鮮明な形態的解析が今後可能となると考えられる。

D-3-6 ダイヤモンド電極による薬物モニタリングシステムの構築とその臨床応用への展望

○日比野 浩¹、Ahmad Norzahirah Binti¹、柴山 礼寛¹、緒方 元気²、齋木 琢郎³、西條 康夫³、栄長 泰明²

¹大阪大・院医・統合薬理、²慶應義塾大・理工・化学科、³新潟大・院医歯・腫瘍内科

体内の薬物濃度のリアルタイム計測は、基礎的な薬理学研究のみならず、臨床の現場でも鍵となる。我々は、理工系先端素材である「ダイヤモンド電極」を用いて、体液中の薬物動態を経時的に追尾するプラットフォームを構築してきた。この電極は、酸化還元反応を介して電気化学的に化合物を検出する。ダイヤモンド電極には、二つの形状がある。第一は、先端径が10~40 μmの針状センサであり、生体内の局所に挿入することができる。このセンサに、電気現象を捉える従来の微小ガラス電極を組み合わせることで、薬物の濃度とその主作用・副作用を同時に捉える計測系を創出した。このシステムを使い、動物の内耳や脳を題材として、利尿薬や抗てんかん薬を解析した。第二は、平板状センサであり、これを1 cm四方のチップ状に加工して、血中の薬物濃度を短時間で定量する系を試作した。このシステムにより、経口投与した抗がん薬の血清濃度を、動物および患者のサンプルから短時間で決定した。ダイヤモンド電極を駆使した薬物モニタリングシステムを最適化し活用することで、新たな視点から薬理作用の理解や薬物治療の発展が進展すると期待される。