

第 148 回日本薬理学会関東部会 開催のご挨拶

日本薬理学会会員の皆様におかれましては、益々ご健勝のこととお慶び申し上げます。この度、第 148 回日本薬理学会関東部会を 2023 年 6 月 17 日（土）にオンラインにて開催させて頂くことになりました。日本薬理学会関東部会は、春と秋の年 2 回開催され、特に若手研究者が研究成果を発表する絶好の機会として利用されています。東邦大学薬学部では 2006 年春の第 114 回関東部会を重信弘毅先生が開催されています。この歴史と伝統のある関東部会を再び東邦大学薬学部で担当させて頂けることを感慨深く思っております。

今回はオンライン開催のメリットを活かし、一般演題は通常の口頭発表と事前掲示型のポスター発表の両方を募集いたしました。学生の皆様の積極的な発表に期待し、口頭発表では学部生・大学院生対象の Young Investigator Award (YIA) の選考も行います。座長や審査員をお引き受けくださった先生方に心より感謝申し上げます。シニアの先生方におかれましては、若手研究者を育てるという面からも活発なご討論をお願いいたします。

特別講演として、東京理科大学創域理工学部の朽津和幸先生に植物生理学のご研究についてお話しいただきます。蛍光イメージングや薬理学的手法など薬理学会会員の皆様との接点もあり、お楽しみいただけると期待します。また、一般演題に先立ち、教育講演として、近年関東部会にて教授に就任された先生方に今後の教育・研究に対する抱負を語っていただきます。これを機会に会員の皆様との交流をいっそう深めていただければ幸いです。多数の皆様のご参加と演題登録を心よりお待ちしております。

第 148 回日本薬理学会関東部会

部会長：田中 光（東邦大学 薬学部 薬物学）

副部会長：高原 章（東邦大学 薬学部 薬物治療学）

参加者へのご案内

第 148 回日本薬理学会関東部会は、インターネットを活用したオンライン学会として開催いたします。

開催形式

- ・口演：Zoom ウェビナー
- ・ポスター：バーチャルポスター会場 (Web 展示会場) でスライドのビデオファイル公開、Zoom ブレイクアウトルームで質疑応答

参加者の視聴・討論

- (1) 参加は 第 148 回日本薬理学会関東部会ウェブサイトのオンライン会場入口より入室 (参加) ください。
- (2) 視聴中のマイクはミュートでお願いします。
- (3) 質問は「手を挙げる」または「Q & A」でお願いします。
- (4) 撮影、録画および録音は固くお断りいたします。

学術評議員会

6 月 17 日 (土)、11 時 30 分から Zoom ウェビナーにて行います。
JPS オンラインの「会員へのお知らせ」よりお入りください。

日本薬剤師研修センター認定

本会は、(公財)日本薬剤師研修センターの認定学術集会です。本会の使用する「デジタル出席証明書」により聴講確認が取れた方には、【4 単位】を付与させていただきます。単位を希望される方は、必ず開催時間の最初から最後まで部会に参加してください。午前のみ、午後のみ受講では単位を付与できません。

【「デジタル出席証明書」による申請方法】

Web 会場の入り口より、10 時 00 分までに入場時間の登録を行ってください。入場時間を登録された方は、各会場での講演終わりに Zoom チャットにて出席証明書 URL を配信いたしますので、必ず退場時間の登録も行ってください。所定の時間を過ぎて申請された場合や入退場の記録が確認できない場合は単位を付与できません。

※「デジタル出席証明書」により入退場時間を登録する際には、Zoom ウェビナーに参加するお名前と同じものをご入力ください。ご入力いただいたお名前が一致しない場合、単位を付与できない可能性があります。 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。

薬理学エディケーターポイント

本会では、薬理学エディケーター認定制度の参加ポイントを発行します。講演・発表中の Zoom チャット内に「薬理学エディケーター認定」の URL を掲示します。掲示された申請 URL をクリックして、「お名前」「E-mail アドレス（参加登録と同一のもの）」を入力ください。複数回の申請があってもポイントの付与は 1 つになります。

発表者へのご案内

口演について

- (1) 発表ならびに討論は Zoom ウェビナーで行います。
- (2) 発表 9 分、質疑応答 3 分です。
- (3) 発表スライドは本部会ホームページ内の「発表者・参加者・座長・審査員の皆様へ」をご参照の上、作成してください。

ポスター発表について

- (1) バーチャルポスター会場で事前にスライドビデオファイルを公開し、学会当日に Zoom ブレイクアウトルームで説明とディスカッションを行います。
- (2) 11:00 ~ 12:45 の時間、演題番号と同じ番号の Zoom ブレイクアウトルームで訪問者への説明およびディスカッションを行ってください。(Zoom ブレイクアウトルームへの入室は参加者の方と同じです。)特に奇数番号の演者は 11:15~11:45 に、偶数番号の演者は 12:00~12:30 の時間に待機するようお願い致します。
- (3) 発表スライドは本部会ホームページ内の「発表者・参加者・座長・審査員の皆様へ」をご参照の上、作成してください。

利益相反について

日本薬理学会ホームページ内の「学術集会発表者の COI 自己申告について」をご参照の上、必要事項を記入した利益相反 (COI) の開示スライドを一枚目に入れてください。

優秀発表賞受賞者の方へ

優秀発表賞受賞者のお名前は後日ホームページで公開します。

座長の先生へのお願い

マイクミュート、カメラオフで Zoom にご参加ください。開始時刻になりましたら、カメラをオンに、発言時にはミュートを解除してください。演者の発表時間は発表 9 分、質疑応答 3 分です。活発な討論と共に、円滑な進行へのご配慮をお願いいたします。

審査委員の先生へのお願い

事前に送付した審査シートを審査が終わりましたら、速やかに下記メールアドレスにお送りください。

第 148 回日本薬理学会関東部会事務局 E-mail: jps-148kanto@pharmacol.or.jp

第 148 回日本薬理学会関東部会 日程表

	A会場	B会場	C会場	ポスター会場
10:00	9:55 開会式			
	10:00~11:00 特別講演 東京理科大 朽津 和幸			10:00~18:30 ポスター掲示 (音声付き資料公開) P1~P23
11:00				11:00~12:45 質疑応答 奇数番号： 11:15~11:45 偶数番号： 12:00~12:30
12:00	11:30~12:30 学術評議委員			
13:00	13:00~13:45 教育講演Ⅰ 東大病院・薬 高田 龍平	13:00~13:45 教育講演Ⅱ 日本大・薬 小菅 康弘	13:00~13:45 教育講演Ⅲ 横浜薬大・薬 日塔 武彰	
14:00	14:00~15:18 一般演題 「心血管」Ⅰ A-1-1 ~ A-1-6	14:00~15:18 一般演題 「中枢神経」Ⅰ B-1-1 ~ B-1-6	14:00~15:05 一般演題 「呼吸器・免疫」 C-1-1 ~ C-1-5	
15:00	15:35~16:53 一般演題 「心血管」Ⅱ A-2-1 ~ A-2-6	15:35~17:06 一般演題 「中枢神経」Ⅱ B-2-1 ~ B-2-7	15:35~16:40 一般演題 「内分泌」 C-2-1 ~ C-2-5	10:00~18:30 ポスター掲示 (音声付き資料公開) P1~P23
16:00	17:10~18:28 一般演題 「心血管」Ⅲ A-3-1 ~ A-3-6	17:25~18:17 一般演題 「消化器」 B-3-1 ~ B-3-4	17:10~18:15 一般演題 「腎・生殖器」 C-3-1 ~ C-3-5	
17:00				
18:00	18:30 閉会式			

特別講演 A 会場 10:00 - 11:00

座長：田中 光（東邦大学 薬学部 薬物学教室）



植物の生き方・情報処理・生体防御

○朽津 和幸（東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科）

教育講演 I A 会場 13:00 - 13:45

座長：諫田 泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）



病院薬剤師 兼（臨床）薬理学者としての医療薬科学研究

○高田 龍平（東京大学 医学部附属病院 薬剤部）

教育講演 II B 会場 13:00 - 13:45

座長：辻 稔（国際医療福祉大学 薬学部 薬理学分野）



先端的異分野融合で切り拓く新たな薬理学研究を目指して

○小菅 康弘（日本大学 薬学部 薬理学研究室）

教育講演 III C 会場 13:00 - 13:45

座長：松田 佳和（日本薬科大学 薬学部 臨床薬学分野）



白血病治療薬

○日塔 武彰（横浜薬科大学 薬学部 臨床薬学科 薬物治療学研究室）

植物の生き方・情報処理・生体防御

○朽津 和幸

東京理科大学創域理工学部生命生物科学科

食料の源であり、美しい花や緑で私たちに安らぎを与えてくれる植物は、太陽の光を活用して栄養分を合成し、大地に根をおろして、周囲の環境の変化に適応して体を作り変える高度な力を秘めています。今後ますます私たちが直面する環境・食糧・エネルギー問題解決のためには、植物こそ私たちが生きていく上でのパートナーであることを理解し、その生き方を学び、植物の力を活かすことが鍵を握ります。

私たち人間を含む動物は、五感を発達させ情報を処理し、神経系を使って体中に伝えることによって動き、生きていますが、植物は周囲をどのように感知し、情報をどのように処理しているのでしょうか?環境変化や外敵の攻撃をどのように認識し、どのように情報を処理し、対応しながら生きているのでしょうか?植物には神経や免疫はあるのでしょうか?

植物は各細胞の自律的な応答性に基づく分散型の情報処理により個体全体を統御するシステムを進化させて来ました。植物免疫、環境ストレス応答、先端成長・発生など植物の高次機能の基盤となる細胞内・細胞間シグナル伝達系、細胞表層における情報統御系の根幹に、活性酸素種(ROS)の積極的生成系と Ca^{2+} 濃度変化とが重要な役割を担っており、積極的なROSの生成を担うNADPH oxidase (NOX)はそのクロストークポイントに位置づけられます。陸上植物のNOXは、N末端側細胞質領域に二つの Ca^{2+} 結合性EF-handを含む高度に保存された活性制御ドメインを持ち、 Ca^{2+} 結合と種々のプロテインキナーゼを介したリン酸化により相乗的に活性化されます。制御されたROS生成の調節機構、生理的意義、及びその進化について議論したいと思います。

何かの全体像を把握しようと思ったら、異なるものと比較対照すると、本質が見えてくることがあります。私は、生物系の中では少数派である植物の研究者として、 Ca^{2+} や活性酸素種を介したシグナル伝達系、オートファジー、プログラム細胞死など動植物共通のキーワードを介して、医学・薬学系の研究者とも交流させていただき、動物と比較しながら植物の生き方を考えて来ました。動物とは一味違う植物の生き方、植物が発達させた能力を分子レベルで考えながら、薬理学を研究する皆様と意見交換させていただく機会を楽しみにしております。

病院薬剤師兼(臨床)薬理学者としての医療薬科学研究

○高田 龍平

東京大学医学部附属病院薬剤部

2022年6月1日に東京大学医学部附属病院薬剤部の教授/薬剤部長に就任致しました、高田龍平(たかだたっぺい)と申します。薬学部生・大学院生時代の薬物動態学研究分野のバックグラウンドを活かし、トランスポーターによる生活習慣病関連物質輸送の生理的役割と病態発症に関する研究を中心に、より適切な薬物治療や創薬を目指した医療薬科学研究を進めています。

具体的には、尿酸・コレステロール・ビタミンなどの栄養物質・内因性物質のトランスポーターによる体内動態制御と高尿酸血症・痛風・動脈硬化・脂肪肝・がんなどの各種疾患の関係性に着目し、細胞膜小胞や培養細胞を用いた *in vitro* 実験、遺伝子改変動物を用いた *in vivo* 実験、電子カルテ情報や臨床検体を活用したアプローチを組み合わせ、分野横断的な研究活動を行ってきました。

医療現場の研究室という性質上、ビッグデータ解析等のドライ研究も一部では手掛けていますが、ドライ研究の担当者にも、薬効標的探索や薬理・毒性作用機序解明の基盤となるウェット研究を少しでも理解・経験できる機会を提供し続けていきたいと考えています。臨床・教育・研究をバランスよく進めていくことは簡単ではありませんが、研究には厳しく、でも愛情を持って、やる気に溢れた学部生・大学院生、薬剤師らとの研究を楽しみたいと決意を新たにしているところです。

本講演においては、トランスポーターによる尿酸動態制御と薬物治療に関する研究を中心に、今後の抱負も交えてお話しする予定です。

(研究室HP: <https://plaza.umin.ac.jp/~todayak/>)

参考文献:

- 1) Sci Transl Med. 2009 Nov 4;1(5):5ra11.
- 2) Nat Commun. 2012 Apr 3;3:764.
- 3) Front Pharmacol. 2016 Dec 27;7:518.
- 4) Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Aug 4;117(31):18175-18177.
- 5) iScience. 2022 Jan 13;25(1):103642.

先端的異分野融合で切り拓く新たな薬理学研究を目指して

○小菅 康弘

日本大学薬学部薬理学

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis; ALS) は、運動ニューロン選択的な変性により、筋萎縮に伴う四肢や嚥下機能の障害が生じ、呼吸不全を来す致死性の神経変性疾患である。これまでに、酸化ストレス、タンパク質凝集、神経炎症などの様々な病因が報告されているものの、病態メカニズム解明には至っていないのが現状である。我々は、ALS患者やALSモデルマウスの脳脊髄液において高濃度に存在することが報告されている膜脂質過酸化物に着目して、病態メカニズム解明や治療法の開発を行っている。なかでも、アラキドン酸のような不飽和脂肪酸が酸化ストレスをうけることにより生じる最も代表的な酸化ストレス産物である4-hydroxynonenal(HNE)が誘発する細胞死に着目し、保護薬の開発を行っている。

抗酸化物質である *N*-acetyl-L-cysteine (NAC) は、培養細胞などの様々な *in vitro* モデルにおいて HNE 誘発細胞死を顕著に抑制する。一方で、生体内で代謝されやすいことや脳・脊髄への移行性がそれほど高くないため、病態モデルマウスでは効果を示さない場合や効果を示すために高用量の薬物投与が必要となる場合があり、*in vivo* レベルでは課題が多く残っている。我々は、本学部有機化学研究室との共同研究により、中枢移行性や細胞移行性を改善した NAC 誘導体を作製したので、NAC およびその誘導体が ALS モデルマウスである G93A superoxide dismutase 1 トランスジェニックマウス (G93A マウス) の症状と生存期間に及ぼす影響について、本講演で発表する。

また、血液-脳関門バリアを介さずに脳内へ薬物を非侵襲的に送達できる Nose-to-Brain 経路に着目した研究にも取り組んでいる。特に、本学部薬剤学研究室との共同研究により、粘膜透過ペプチドを修飾したミセル型ナノカプセル(粘膜透過性ナノカプセル)を併用して NAC などの水溶性低分子を経鼻投与することで、薬物送達困難な脳内ならびに脊髄内への分布効率を向上させるとともに、運動機能障害発症後の G93A マウスにおいても治療効果を示すことを見出したので、その成果についても紹介する。

白血病治療薬

○日塔 武彰

横浜薬科大学薬学部臨床薬学科薬物治療学

血液細胞は、骨髄において多分化能と自己複製能を併せ持つ血液幹細胞から造られる。血液幹細胞は、骨髄の支持細胞との接着や周辺の細胞から分泌される分化増殖因子によって、様々な段階を経て特定の血球細胞へと分化する。血液細胞の産生量は体内の需要に対応して厳密に制御されており、必要な時に必要な細胞が必要な数だけ造り出される。この制御が何らかの原因で破たんし、特定の細胞が過剰に造り出される状態が白血病である。その疾患背景から、白血病は血液のがんと称される。固形腫瘍と異なり白血病細胞を単一の組織として摘出することが困難であることと、血液細胞は脈管系を介して全身にくまなく分布することから、その治療法は全身に対する薬物療法が中心となる。多くの白血病の薬物療法では、固形がんに対する薬物療法と同様に、白血病細胞が増殖一辺倒になっていることに注目して白血病細胞の増殖を抑制する薬物を使う。白血病においては、DNAの複製過程を抑制するトポイソメラーゼ阻害薬やアラビノース結合核酸などが用いられる。一方、細胞増殖シグナルの伝達機構の解明が進み、がん細胞の増殖にチロシンキナーゼが重要な役割を果たすことが明らかになったことから、白血病細胞において変異したチロシンキナーゼを選択的に阻害する薬物が登場した。

急性前骨髄球性白血病(APL)は、白血病の中でも長らく予後不良な一群に属していた。各種の研究から、APLは遺伝子の転座によってビタミンA受容体の遺伝子(*RARA*遺伝子)と核の構造物をコードする*promyelocytic leukemia(PML)*遺伝子の融合遺伝子が生じるために発症することが明らかにされた。この融合遺伝子は内因性のビタミンAの分化誘導能を阻害して核の構造を不安定化することにより、好中球の前駆細胞の分化と増殖のバランスを増殖に傾かせていることが明らかになった。また、活性型のビタミンAを大量投与して白血病細胞に分化を誘導すると、成熟した血球(白血病細胞由来の顆粒球)は寿命が短いため、その数が減少し、結果的にAPLの寛解を導入できることが報告された。その後、合成のビタミンA受容体作動薬が開発され、現在では、活性型ビタミンAを用いた治療法はAPLの標準的な治療法となっている。このように、白血病においては、一般的ながんの薬物療法に用いられるがん細胞の増殖を抑制する薬物に加え、白血病細胞の特性を捉えて分化を促進する薬物によって治療を行うという治療戦略が存在する。

14:00-15:18 心血管 I

座長：富田 太一郎（東邦大・医・統合生理）
森 麻美（帝京大・薬・医薬品作用）



A-1-1 マウスにおける metformin の病的網膜血管新生に対する抑制効果

○森田 茜¹、矢ヶ崎 莉菜¹、森 麻美^{1,2}、坂本 謙司^{1,2}、柏原 俊英¹、中原 努¹
¹北里大・薬、²帝京大・薬・医薬品作用学

A-1-2 Streptozotocin-induced diabetic rat femoral arteryにおける uridine diphosphate 誘発収縮反応



○奥 樹乃¹、松本 貴之¹、小野田 仁子¹、松田 千穂¹、田口 久美子²、小林 恒雄²
¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

A-1-3 転写因子 GATA4 の多量体形成阻害は心筋細胞肥大を抑制した



○須藤 優¹、塚部 凌輔¹、川瀬 裕斗¹、清水 聡史^{1,3}、浜辺 俊秀^{1,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、
船本 雅文^{1,2}、清水 果奈^{1,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,3}、森本 達也^{1,2,3}
¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構京都医療センター・臨床研究センター展開医療研究部、³静岡県立総合病院

A-1-4 駆出率が保たれた心不全（HFpEF）心臓での心線維化メカニズムの解明



○岩本 晃拓、丸ノ内 徹郎、田野中 浩一
東京薬科大・薬学部医療薬物薬学科・病態薬理

A-1-5 自然発症高血圧ラット上腸間膜動脈におけるウリジン三リン酸誘発弛緩反応と内皮由来因子の関わり



○樋口 由姫¹、松本 貴之¹、豊田 美郷¹、松本 涼花¹、田口 久美子²、小林 恒雄²
¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

A-1-6 ヒトiPS細胞由来分化心筋細胞の電気生理学的特性に対するペーシング刺激の影響



○佐藤 隆至¹、加地 憲武¹、坂本 多穂¹、行方 衣由紀²、田中 光²、諫田 泰成³、
渡邊 泰秀¹、黒川 洵子¹
¹静岡県立大・薬・生体情報分子解析学、²東邦大・薬、³国立医薬品食品衛研・薬理

15:35-16:53 心血管 II

座長：柏原 俊英（北里大・薬・分子薬理）

田口 久美子（星薬科大・薬・機能形態学）



A-2-1 糖尿病性心筋症における臓器連関を介した Neuregulin-1/ErbB2/4 シグナルによる左室収縮機能の維持

○三上 義礼、岩瀬 奎輝、大島 大輔、富田 太一郎、赤羽 悟美
東邦大・医・生理・統合生理

A-2-2 Spontaneously hypertensive rat 摘出頸動脈における 5-HT 収縮反応に対する TRPC3 チャンネルの関与



○河井 琴美¹、松本 貴之¹、岡田 愛由¹、堀口 礼衣¹、田口 久美子²、小林 恒雄²
¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

A-2-3 敗血症による心臓電気活動の異常に対する I_{Ks} チャンネルの役割



○服部 希海¹、野間口 財¹、児玉 昌美^{1,2}、渡邊 泰秀¹、清水 聡史^{1,3}、永森 收志³、坂本 多穂¹、黒川 洵子¹
¹静岡県立大・院・薬、²順天堂大・医、³東京慈恵会医科大・医

A-2-4 心臓特異的 p300-BP1 ノックアウトは圧負荷による心筋肥大及び心不全の進展を軽減させた



○鈴木 悠斗¹、砂川 陽一^{1,2,3}、石間 彩花¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、船本 雅文^{1,2}、清水 聡史¹、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}
¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構 京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院

A-2-5 圧負荷心臓でのネクローシス経路の活性化における Hsp90 の役割



○進藤 碧乃、丸ノ内 徹郎、田野中 浩一
東京薬科大・薬・分子細胞病態薬理学教室

A-2-6 High throughput screening assay により同定した RFN-409 は圧負荷による左室収縮能低下を改善した



○前田 莉沙¹、清水 聡史¹、砂川 陽一^{1,2,3}、浜辺 俊秀^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、船本 雅文^{1,2,4}、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}
¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²国立病院機構 京都医療センター 臨床研究センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院・臨床研究部、⁴徳島大・院医歯薬・薬理学分野

17:10-18:28 心血管 III

座長：丸ノ内 徹郎（東京薬科大・薬・分子細胞病態薬理学）
中瀬古 寛子（東邦大・医・薬理学）



A-3-1 Aciclovirによる陽性変時・変力・変伝導作用の発生機序の解析

○後藤 愛、神林 隆一、中瀬古（泉）寛子、武井 義則、杉山 篤
東邦大・医

A-3-2 MLL1メチル化酵素阻害剤は心臓線維芽細胞の活性化を抑制した



○武田 七虹¹、刀坂 泰史^{1,2,3}、村田 膳行¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²国立病院機構 京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院

A-3-3 Carvedilolが糖尿病性血管内皮機能障害を改善するメカニズムの解析



○横井 菜々子、田口 久美子、石井 梨紗、佐能 優里、増川 陽美、石井 萌々華、上原 幸帆、松本 貴之、小林 恒雄
星薬大・薬・機能形態学

A-3-4 抗寄生虫薬 ivermectinの心臓安全性薬理学的特性分析：イソフルラン麻酔犬を用いたICH S7Bガイドラインフォローアップ試験



○鈴木 伸幸¹、神林 隆一²、後藤 愛²、中瀬古（泉）寛子²、武井 義則²、内藤 篤彦¹、杉山 篤²

¹東邦大・院医・生理学講座細胞生理学、²東邦大・医・薬理学講座

A-3-5 Esaxerenoneはmicroparticles産生を減少させることで糖尿病性血管内皮機能障害を抑制した



○北村 玲奈、田口 久美子、石垣 実乃、阿部 美鈴、岩崎 彩音、金子 真由奈、松本 貴之、小林 恒雄

星薬大・薬・機能形態学

A-3-6 完全房室ブロックウサギモデルによる吸入麻酔薬 sevofluraneおよび静脈麻酔薬 propofolが有する催不整脈作用特性の分析



○海野 和恵、川上 聡士、相本 恵美、永澤 悦伸、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

14:00-15:18 中枢神経 I

座長：大久保 洋平 (順天堂大・医・薬理学)

宮野 加奈子 (東京慈恵会医科大・医・疼痛制御)



B-1-1 ギャンブル依存の形成に対する大脳基底核-ドーパミン系の関与

○太田 宏之¹、野澤 孝司²、今野 歩³、石塚 俊晶¹

¹防衛医科大・医学科・薬理、²目白大学、³群馬大・院医

B-1-2 うつ病の無快感発症機序における腹側海馬 GABA 神経障害の関与

○岩井 孝志、吉川 聡美、高木 郁海、小林 采香、尾山 実砂、渡辺 俊、田辺 光男
北里大・薬

B-1-3 新皮質脳波への急性低酸素状態の影響

○河村 優志¹、吉本 愛梨¹、松本 信佳^{1,2}、池谷 裕二^{1,2}

¹東京大・院薬・薬品作用学教室、²東京大学 Beyond AI 研究推進機構



B-1-4 細胞内 SM レベルの減少はアストロサイトの活性化を抑制する

○門脇 凌、本田 拓也、中村 浩之

千葉大・院薬・薬効薬理学



B-1-5 選択的オピオイド δ 受容体作動薬 KNT-127 は恐怖記憶の再発を抑制する

○畠山 梓摘¹、河南 絢子¹、山田 大輔¹、吉岡 寿倫¹、梶野 景太²、斉藤 毅³、長瀬 博⁴、
斎藤 顕宜¹

¹東京理科大・院薬・薬科学専攻、²筑波大・数理物質系・化学域 製薬化学分野、³筑波大・
国際統合睡眠医科学研究機構、⁴筑波大



B-1-6 発達期扁桃体における axo-axonic シナプス形成の解析

○林 涼太¹、池谷 裕二^{1,2}、森川 勝太^{1,3}

¹東京大・薬・薬科学科、²東京大・Beyond AI 研究推進機構、³東京大・理・分子神経生理学
教室



15:35-17:06 中枢神経 II

座長：大澤 匡弘（帝京大・薬・薬効解析学）
葛巻 直子（星薬科大・薬・薬理）



B-2-1 Ca²⁺ イメージセンサーを用いた海馬の細胞外Ca²⁺の可視化

○パラジュリ ビージェイ^{1,2}、土井 英生³、繁富 英治^{1,2}、鈴木 秀明^{1,2}、野田 俊彦³、高橋 一浩³、澤田 和明³、小泉 修一^{1,2}

¹山梨大・大学院医学工学総合研究部・薬理、²山梨大・GLIAセンター、³豊橋技術科学大学・電気・電子情報工学系

B-2-2 画像処理と機械学習によるラットやマウスの新規物探索行動試験の自動化

○岸 拓也¹、港高志¹、江上由美¹、小林幸司^{1,2}、村田幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学研究室、²東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室

B-2-3 Aβ 産生制御におけるAPP-PlexinA シグナルの機能解析

○関口 拓己^{1,2}、櫻井 隆²、山下 直也^{2,3}

¹順天堂大・医・6年、²順天堂大・医・薬理、³神奈川工大・応用バイオ



B-2-4 アストロサイトが影響する転移性脳腫瘍の特性

○加藤 大皓¹、大川 柊弥¹、佐藤 圭汰朗¹、後藤 杏子¹、渡邊 麻央¹、畠山 浩人²、樋坂 章博¹、佐藤 洋美¹

¹千葉大・院薬・臨床薬理学研究室、²千葉大・院薬・薬物学研究室



B-2-5 クルクミン類縁体の化合物は膠芽腫に対してクルクミンよりも低濃度で抗腫瘍作用を示した

○伊藤 亮¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、小野 雅也¹、岩清水 苑夏¹、稲井 恭子¹、砂川 陽一^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、荒川 芳輝⁴、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院、⁴京都大学医学部附属病院・脳神経外科



B-2-6 エンドセリンA受容体とμオピオイド受容体は二量体化受容体を形成し、新規エンドセリンA受容体拮抗薬はエンドセリンによるオピオイド鎮痛減弱作用を回復させる

○大島 佳織^{1,2}、野中美希²、黒田 唯^{2,3}、宮野 加奈子²、高柳 広¹、上園 保仁^{2,3}

¹東京大・院医・病因・病理、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御、³順天堂大・医・麻酔科学・ペインクリニック



B-2-7 PDE4 阻害薬は NMDA 誘発網膜神経傷害を抑制する

○森 麻美、深澤 梨咲子、上園 崇、恒岡 弥生、坂本 謙司
帝京大・薬・医薬品作用

17:25-18:17 消化器

座長：村田 幸久（東京大・院農・放射線動物科学）

伊藤 義也（北里大・医・薬理）



B-3-1 肝類洞閉塞症候群モデルにおける肝類洞内皮細胞再生

○伊藤 義也、大高 史聖、田邊 美奈、黒田 悠、中本 修司、畑中 公、鎌田 真理子、
細野 加奈子、天野 英樹

北里大・医

B-3-2 非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) が抗原感作に与える影響の解明

○大河原 冬彩¹、林 亜佳音¹、小林 幸司²、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、²東京大・院農学生命科学・食と動物の
システム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室



B-3-3 Prostaglandin E₂とCaffeineの併用による肝星細胞活性化抑制機構の解明

○渡辺 雄太¹、土肥 直貴¹、山口 桃生¹、齊藤 真也^{1,2}、石川 智久¹

¹静岡県立大・院薬・薬理、²岡山理科大・獣医・創薬



B-3-4 Prostaglandin D₂受容体の刺激は腸管のバリア機能を増強する

○林 亜佳音¹、坂本 直観¹、中村 達朗¹、小林 幸司^{1,2}、永田 奈々恵¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、²東京大・院農学生命科学・食と動物の
システム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室



14:00-15:05 呼吸器・免疫

座長：粕谷 善俊（千葉大・院医・疾患生命医学）
佐藤 洋美（千葉大・院薬・臨床薬理学）



C-1-1 急性肺障害を制御するVEGFR1シグナルの関与

○長田 真由子¹、山下 敦¹、細野 加奈子¹、鎌田 真理子¹、畑中 公¹、伊藤 義也¹、
澁谷 正史²、天野 英樹¹

¹北里大・医・薬理、²上武大・医学生理学研

C-1-2 Aquaporin-5による肺上皮細胞のアポトーシス抑制とその病態生理学的意義

○石井 慎也、内山 雄太、村上一仁、磯濱 洋一郎

東京理科大・薬・応用薬理学



C-1-3 5,6-DiHETEは肥満細胞の脱顆粒を抑制して、アレルギー性結膜炎の症状を抑制する

○竹ノ内 晋也¹、永田 奈々恵¹、鈴木 十萌歌¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学、²東京大・院農学生命科学・獣医薬理学、³東京大・
院農学生命科学・食と動物のシステム科学



C-1-4 転移性脳腫瘍の脳内免疫環境とアストロサイトの関与

○佐藤 圭汰朗¹、加藤 大浩¹、菊池 望恵¹、大川 柊弥¹、後藤 杏子¹、松本 千佳²、
田中 浩揮²、秋田 英万²、樋坂 章博¹、佐藤 洋美¹

¹千葉大・院薬・臨床薬理学研究室、²東北大・院薬・薬物送達学



C-1-5 抗 tetranor-PGDM 抗体の改変とヒトの尿中 tetranor-PGDM 濃度を測定する酵素免疫測定法の開発

○藤城 正樹¹、永田 奈々恵¹、小川 進也¹、石井 健¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学教室、²東京大・院農学生命科学・食と動物のシ
ステム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室



15:35-16:40 内分泌

座長：金子 雪子（静岡県立大・院薬・薬理）
吉江 幹浩（東京薬科大・薬・内分泌薬理）



C-2-1

SGLT2阻害剤による心保護作用のメカニズム解明のための脂肪組織の抗炎症及び代謝シフトに関する検討



○豊島 拓斗、小金 正空、樋坂 章博、佐藤 洋美
千葉大・院薬・臨床薬理学研究室

C-2-2

遊離脂肪酸の質的違いが膵臓β細胞のミトコンドリア機能および酸化ストレス耐性に与える影響



○鈴木 真理子¹、井上 愛珠実²、遠藤 薫子²、永田 莉子²、田中 直子²
¹大妻女子大院人間文化 健康栄養、²大妻女子大・家政・食物

C-2-3

脂肪細胞の分化および分解に対するCordycepin含有琉球夏草抽出エキスの効果



○岡 幸大、草間 和哉、藤井 千咲、吉田 佳乃子、安曇 麻奈、吉江 幹浩、田村 和広
東京薬科大・薬・内分泌薬理学

C-2-4

シークワサー果皮抽出物の経口摂取はマウス膵β細胞量保持による抗糖尿病効果を示す



○梶 萌、金子 雪子、Ihim Stella、狩野 蘭、石川 智久
静岡県立大・院薬・薬理

C-2-5

ケルセチンはミトコンドリア機能を介して胎盤栄養膜細胞の融合を促進する



○篠原 豪¹、吉田 佳乃子¹、草間 和哉¹、小島 淳哉²、安曇 麻奈¹、吉江 幹浩¹、
小野 政徳²、西洋孝²、田村 和広¹
¹東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室、²東京医科大・医・産科婦人科学教室

17:10-18:15 腎・生殖器

座長：伊藤 由彦（静岡県立大・院・薬食研究推進センター）
柴田 佳太（昭和大・薬・基礎医療薬学・薬理）



C-3-1 マウスにおけるポドサイトとボウマン嚢上皮細胞の加齢性変化と性差の検討

○鎌田 真理子¹、細野 加奈子¹、畑中 公¹、伊藤 義也¹、Stuart J. Shankland²、
天野 英樹¹

¹北里大・医・薬理学、²University of Washington・Department of Nephrology

C-3-2 ハナショウガ成分ゼルンポンは培養細胞及び動物モデルで腎臓線維化を抑制する



○鳴田 竜也¹、刀坂 泰史^{1,2,3}、浜辺 俊秀^{1,2,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,2}、
森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大院・薬学研究科・分子病態学講座、²国立病院機構京都医療センター・展開医療
研究部、³静岡県立総合病院

C-3-3 胎盤細胞融合におけるPPAR γ とcAMPシグナル介在性内在性レトロウイルス遺
伝子の発現制御



○小田切 歩絵美¹、安曇 麻奈¹、吉江 幹浩¹、田村 和広¹、今川 和彦²、草間 和哉¹

¹東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室、²東海大・農・総合農学研究所

C-3-4 トロンボキサンの子宮内膜症における役割解明



○古江 明子^{1,2}、服部 響子²、本田 雅子²、関口 和企²、細野 加奈子¹、鎌田 真理子¹、
畑中 公¹、伊藤 義也¹、加藤 一喜²、天野 英樹¹

¹北里大・院医療・分子薬理学、²北里大・医・産婦人科学

C-3-5 子宮内膜間質細胞におけるSERPINA 1発現低下時のPGE2とトロンビンによる炎
症反応の増強



○沖田 萌亜奈、草間 和哉、安曇 麻奈、吉江 幹浩、田村 和広

東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室

一般演題 (ポスター発表)

質疑応答

奇数番号：11：15~11：45、偶数番号：12：00~12：30



- P-01** 立体的かつ構造改変が容易な新規 δ 、 κ 受容体作動薬の探索～ CellKey アッセイシステムを用いて～
○渥美 菜穂^{1,2}、宮野 加奈子²、唐木 文霞¹、前山 千晶^{1,2}、横田 純礼^{1,2}、小村 京子^{1,2}、曾 友佳^{1,2}、野中 美希²、藤井 秀明¹、上園 保仁²
¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座
- P-02** 神経障害性疼痛モデルラットの側坐核の dopamine 放出へ orexin 受容体拮抗薬が及ぼす影響
○川島 央暉、三枝 禎
日本大・松戸歯学部・薬理学
- P-03** Methylglyoxal 誘発ラット網膜傷害におけるミューラー細胞の YAP の発現変化
○奥山 祐未、柏原 俊英、矢崎 真由子、萩原 歩美、井上 紗栄、中原 努
北里大・薬・分子薬理
- P-04** 宮古ビデンス・ピローサエキスは筋萎縮性側索硬化症モデルマウスの A1 型アストロサイトの増加を選択的に抑制する
○浜野 裕衣¹、鶴田 こむぎ¹、宮岸 寛子¹、青野 悠里²、三枝 禎²、斎藤 稔³、小菅 康弘¹
¹日本大・薬・薬理、²日本大・松戸歯・薬理、³日本大・文理・生命科学
- P-05** 炎症を生じた皮内における神経線維上のガングリオシドの分布
○渡辺 俊¹、齊藤 琉夏^{1,2}、東浦 愛^{1,2}、岩井 孝志^{1,2}、尾山 実砂^{1,2}、田辺 光男^{1,2}
¹北里大・薬、²北里大・薬・附属医薬研
- P-06** 遺伝子改変マウスモデルを用いた心筋 IKs チャネルリン酸化の役割の解析
○須藤 優香¹、西村 明幸²、三宝 誠³、坂本 多穂¹、平林 真澄³、西田 基宏^{2,4}、黒川 洵子¹
¹静岡県大・院薬、²生理学研・心循環シグナル、³生理学研・遺伝子改変動物、⁴九州大・院薬
- P-07** 抗寄生虫薬 niclosamide の既存薬再開発 (drug repositioning) に向けた心臓安全性評価： β 遮断薬の併用により生じた Kounis 症候群の可能性
○神林 隆一、後藤 愛、中瀬古 (泉) 寛子、武井 義則、杉山 篤
東邦大・医・薬理
- P-08** I 群抗不整脈薬の陰性変力・変時作用の比較
○濱口 正悟、日色 啓仁、出口 菜乃香、高橋 由菜、行方 衣由紀、田中 光
東邦大・薬・薬物

- P-09** ラット肺静脈心筋の間欠型自発活動におけるカリウム電流の寄与
○坂井 海斗、唐鎌 拓海、根立 柚希、濱口 正悟、行方 衣由紀、田中 光
東邦大・薬・薬物
- P-10** ノルフロキサシンの心室再分極への影響 –イソフルラン麻酔モルモットを用いて–
○津久井 榮南、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-11** ブレクスピプラゾールがイソフルラン麻酔モルモットの心室再分極過程に与える影響 –アリピプラゾールとの比較–
○金子 萌季、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-12** 三環系抗うつ薬ノルトリプチリン、アミトリプチリンの過量投与時の心臓電気生理学的作用 –イソフルラン麻酔モルモットでの検討–
○影山 夏奈、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-13** Angiotensin IIの急性投与が生体位モルモット心臓での薬物誘発性QT延長に及ぼす影響
○近田 里葉、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-14** バソプレシンが麻酔ウサギの血管弾性におよぼす影響
○斉木 貴行、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-15** Rhoキナーゼ阻害薬が麻酔ウサギの動脈血管弾性に及ぼす影響
○松本 茉奈実、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学
- P-16** モルモット胸部大動脈平滑筋のフェニレフリンによる収縮反応はストア作動性Ca²⁺チャネル及び電位依存性Ca²⁺チャネルと機能的に共役した α_{1L} -アドレナリン受容体の刺激によりもたらされる
○松山 祐輔、De Dios Regadera Montserrat、矢代 彩乃、三代川 真弓、井浦 瑠美、吉岡 健人、小原 圭将、田中 芳夫
東邦大・薬・薬理
- P-17** マウスにおける敗血症性不整脈の解析と性差の解析
○安藤 侑馬、岩鶴 果奈、清水 聡史、児玉 昌美、黒川 洵子、坂本 多穂
静岡県立大・薬・生体情報分子解析学分野

- P-18** 腎臓における性腺由来・性染色体由来を区別した遺伝子発現性差の網羅的解析
 ○岸本 隼弥¹、杉本 早穂¹、水野 葵¹、清水 聡史^{1,2}、Kongpracha Pornparn²、
 宮坂 政紀²、Pattama Wiriyasermkul²、坂本 多穂¹、中井 雄治³、永森 收志²、
 黒川 洵子¹
¹静岡県立大・薬・生体情報分子解析学分野、²東京慈恵会医科大・医・臨床検査医学講座・
 SI医学応用研究センター、³弘前大・地域戦略研究所・食料科学研究部門
- P-19** ジメチルスルホキシド（DMSO）はアセチルコリンエステラーゼ活性を阻害すること
 ことでラット膀胱平滑筋のアセチルコリン誘発性収縮を増強する
 ○小原 圭将、松岡 祐佳、岩田 直也、阿部 友佳子、池上 陽平、藤井 彩乃、吉岡 健人、
 田中 芳夫
 東邦大・薬・薬理
- P-20** オートファゴソーム形成に対するセラミドキナーゼの関与
 ○佐野 真澄、布能 英樹、本田 拓也、中村 浩之
 千葉大・院薬・薬効薬理学
- P-21** SARS-CoV-2感染によるヒト血液脳関門のバリア機能低下
 ○山田 茂¹、坡下 真大²、柳田 翔太¹、佐藤 寛之²、安彦 行人¹、岡部 かおり³、
 野田 隆政³、西田 基宏^{4,5}、松永 民秀²、諫田 泰成¹
¹国立医薬品食品衛研・薬理、²名古屋市立大・院薬、³国立精神・神経医療研究セ・精神、
⁴九州大・院薬、⁵生理学研
- P-22** 蓮の花エキスはTREK-1 (potassium channel subfamily K member 2; KCNK2)活性
 を阻害する～ TREK-1チャンネル阻害により抗不安・抗うつ作用を示す成分の食物・
 生薬からの検索～
 ○小村 京子^{1,2}、宮野 加奈子²、井出 薫乃^{1,2}、室伏 美佳^{1,2}、曾 友佳^{1,2}、渥美 菜穂^{1,2}、
 野中 美希²、藤井 秀明¹、上園 保仁²
¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座
- P-23** 半夏瀉心湯は頭頸部がん化学放射線療法口腔粘膜炎モデルの症状を改善する
 ○曾 友佳^{1,2}、宮野 加奈子²、井出 薫乃^{1,2}、渥美 菜穂^{1,2}、小村 京子^{1,2}、野中 美希²、
 藤井 秀明¹、上園 保仁²
¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座

マウスにおける metformin の病的網膜血管新生に対する抑制効果

○森田 茜¹、矢ヶ崎 莉菜¹、森 麻美^{1,2}、坂本 謙司^{1,2}、柏原 俊英¹、中原 努¹

¹北里大・薬、²帝京大・薬・医薬品作用学

【背景】未熟児網膜症および糖尿病網膜症で観察される異常な網膜血管新生には、vascular endothelial growth factor (VEGF) が重要な役割を演じている。そこで、異常な網膜血管新生に対して抗 VEGF 薬が用いられているが、網膜神経や正常血管に悪影響を及ぼす可能性があることから、より安全で有効性の高い治療薬の開発が望まれている。近年、糖尿病治療薬である metformin が眼内血管新生を抑制することが示されているが、その機序の詳細は十分に明らかにされていない。本研究では、異常な網膜血管新生の実験モデルとして汎用されている酸素誘導網膜症モデルマウスを用いて、病的網膜血管新生に対する metformin の効果について検討した。

【方法】マウスを7日齢から3日間、高酸素(80%)環境下で飼育して網膜血管の発達障害を引き起こした。10日齢以降、大気下で飼育することにより酸素誘導網膜症モデルマウスを作製した。本モデルの10日齢時からmetformin (200 mg/kg) を5日間処置した。10日齢時から異常な新生血管が認められる15日齢時までの、網膜における血管形成、VEGF と VEGF 受容体の発現分布ならびに VEGF 受容体の下流シグナル経路であるmTOR 経路の活性化(S6 タンパク質のリン酸化)について検討した。

【結果】酸素誘導網膜症モデルマウスの網膜では、異常な血管新生および VEGF mRNA の発現増加が認められた。更に、異常な新生血管において VEGF 受容体発現と S6 タンパク質のリン酸化が観察された。Metformin は、異常な網膜血管新生と S6 タンパク質のリン酸化を抑制したが、VEGF mRNA と VEGF 受容体の発現には影響を及ぼさなかった。

【考察】本実験成績は、酸素誘導網膜症モデルマウスにおいて、VEGF は一部mTOR 経路の活性化を介して異常な血管新生を引き起こすこと、そして metformin はその機序を抑制することを示唆している。Metformin は VEGF と VEGF 受容体の発現に影響を及ぼさなかったことから、網膜神経や正常血管への悪影響を及ぼす危険性の低い異常血管新生抑制薬として期待される。

Streptozotocin-induced diabetic rat femoral arteryにおける uridine diphosphate 誘発収縮反応

○奥 樹乃¹、松本 貴之¹、小野田 仁子¹、松田 千穂¹、田口 久美子²、小林 恒雄²

¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

【目的】糖尿病病態が持続すると、全身において様々な機能障害、合併症が発症するが、この根幹となるものの一つに、血管機能障害がある。大腿動脈は、下肢の血流調節において重要で、持続的な糖尿病により下肢の循環障害により重大な下肢虚血が引き起こされる可能性がある。しかし、持続的な糖尿病病態下における大腿動脈の収縮・弛緩といった機能、血管作動性物質による反応性やその機序は未だ不明である。一方、uridine diphosphate (UDP) は、大腿動脈において収縮反応を引き起こし、我々は近年、糖尿病時に増大していると考えられる終末糖化産物の前駆体を正常ラット大腿動脈に急性処置することによりUDPによる収縮反応が増大することを見出した。そこで今回、糖尿病モデル動物 [streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat] の摘出大腿動脈におけるUDPによる収縮反応と、その機序として、内皮、nitric oxide (NO)、cyclooxygenase (COX) の関与について検討した。【方法】STZをWistarラットに尾静脈投与し、4 ± 1ヶ月経過後のラット摘出大腿動脈リング標本を、オルガンバスを用いて反応を測定した。内皮除去標本、内皮保持標本、内皮保持標本に nitric oxide synthase (NOS) 阻害薬や、cyclooxygenase (COX) 阻害薬を処置した条件においても検討した。【結果・考察】High-K⁺収縮は、STZ群とcontrol群で変化が認められなかったが、UDPによる収縮は、内皮 intact、内皮除去、NOS阻害、COX阻害それぞれの条件下でもSTZ群で収縮が増大していた (vs. 対照群)。以上の結果より、糖尿病時において、大腿動脈におけるUDPによる収縮は増強し、これには、内皮由来物質によるシグナルの変化よりもむしろ、血管平滑筋細胞における変化が原因であることが示唆された。

転写因子GATA4の多量体形成阻害は心筋細胞肥大を抑制した

○須藤 優¹、塚部 凌輔¹、川瀬 裕斗¹、清水 聡史^{1,3}、浜辺 俊秀^{1,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、船本 雅文^{1,2}、清水 果奈^{1,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,3}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構京都医療センター・臨床研究センター展開医療研究部、³静岡県立総合病院

【目的】心筋細胞の核内伝達経路であるp300/GATA4経路は心不全の発症・進展に重要な役割を果たすことが知られている。しかし転写因子GATA4による転写活性制御の詳細なメカニズムはまだ不明である。そこで本研究では、GATA4の多量体形成が心筋細胞肥大の制御に関わるかを検討することを目的とした。

【方法・結果】GATA4が多量体を形成するかを検討するために、GST Pull-down法やHEK293細胞を用いた免疫沈降-ウェスタンブロット (IP-WB) 法を行ったところ、*in vitro*及び細胞内で、GATA4は少なくともホモ三量体を形成することが示唆された。次に、ゲル濾過クロマトグラフィーを行ったところ、GATA4は多量体を形成することが示唆された。さらにGST pull-down法によりGATA4の308-326番目のアミノ酸がGATA4の多量体形成に必要であることが示された。次にGATA4の多量体形成部位を含む人工ペプチド (GATA4 multimerization region peptide, GMP) を作成し、HEK293細胞に過剰発現し、IP-WB法を行ったところGATA4とp300の結合やGATA4のアセチル化に影響を与えず、GATA4の二量体形成を阻害した。クロマチン免疫沈降法やDNA Pull-down法を行ったところ、GMPはGATA4のDNA結合能に影響を与えなかった。レポーターアッセイによりGMPはp300/GATA4による肥大反応遺伝子のプロモーター活性の亢進を抑制した。また、初代培養心筋細胞を用いて、蛍光免疫染色で細胞面積を測定したところ、GMPはフェニレフリン (PE) 刺激による心筋細胞肥大を抑制した。さらに、レポーターアッセイを行ったところ、GMPの過剰発現はPE刺激による肥大反応遺伝子のプロモーター活性を抑制した。

【考察】GATA4は多量体を形成することで肥大反応遺伝子の転写活性に関与していることが示されたことからGATA4の多量体形成阻害が新規心不全治療となる可能性が示された。今後、心不全の発症にGATA4の多量体形成が重要であるかを動物モデルで検討する。また、GATA4の多量体形成を阻害する化合物を探索することで、新規心不全治療薬の開発に繋がると考える。

駆出率が保たれた心不全（HFpEF）心臓での心線維化メカニズムの解明

○岩本 晃拓、丸ノ内 徹郎、田野中 浩一

東京薬科大・薬学部医療薬物薬学科・病態薬理

【目的】 駆出率が保たれた心不全（HFpEF）は、心臓の拡張機能障害を主因とする慢性心不全とされる。駆出率が低下した心不全（HFrfEF）には、すでに治療での薬物の選択肢がある一方、HFpEFの治療法でのそれは未だに確立されていない。HFpEFの特徴的な病態に心線維化がある。しかしながら、HFpEF心臓における心線維化のメカニズムは未だに明らかにされていない。そこで本研究では、HFpEFマウスを用い、その心線維化メカニズムとしてのTGF- β 受容体シグナル伝達経路の関与について検討した。【方法】 C57B1/6N マウス（10週令）に高脂肪食および一酸化窒素合成酵素阻害薬（L-NAME）を添加した飲料水を自由摂取させた（HFpEF群）。対照群には、通常食および水道水を自由摂取させた（control群）。15週間の飼養の後に心エコー法で心機能を評価し、その後、心筋組織に関する各種解析を行った。【結果・考察】 処置後15週目の高脂肪食及びL-NAME飲水投与マウスでは、拡張機能の指標のE/A比が低下し、E/e'比が上昇した。その一方で、収縮機能の指標のEF値は保持されたことから、HFpEFに陥ったことが示された。心筋組織切片を用いて心線維化の進行の度合いを評価したところ、HFpEF群では、典型的な心線維化像が観察された。Western immunoblot法で、心筋組織でのTGF- β 受容体シグナル伝達タンパク質含量について検討したところ、HFpEF群でTGF- β 受容体の下流シグナル伝達経路のRas/c-Raf/Erk1/2経路およびSmad2/Smad3経路の活性化が示された。これらの結果から、HFpEF心筋の線維化には、TGF- β 受容体シグナル伝達経路活性化の関与が示唆された。

自然発症高血圧ラット上腸間膜動脈におけるウリジン三リン酸誘発弛緩反応と内皮由来因子の関わり

○樋口 由姫¹、松本 貴之¹、豊田 美郷¹、松本 涼花¹、田口 久美子²、小林 恒雄²

¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

【目的】高血圧状態が持続すると、血管の機能障害を引き起こし、全身の臓器機能へ影響を及ぼす。血管機能において、高血圧は、血管作動性物質による収縮・弛緩といった反応性を変化させる。細胞外核酸は、情報伝達物質として様々な生理反応に寄与するとともに、血管作動性物質としても重要である。細胞外核酸に着目した検討において、私達は、これまで自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rat, SHR) の上腸間膜動脈におけるアデノシン三リン酸 (ATP)、アデノシン二リン酸 (ADP)、アデノシンによる弛緩反応を検討し、対照 Wistar Kyoto rat (WKY) と比較し、ATP 並びに ADP 誘発弛緩反応の減弱、両群同程度のアデノシンによる弛緩反応を見出した。しかし、ウリジン三リン酸 (UTP) による反応は不明であった。そこで、SHR、WKY の上腸間膜動脈における UTP による反応について検討した。また、併せて、内皮由来因子との関わりも検討した。【方法】雄性 SHR、WKY 上腸間膜動脈リング標本作成しオルガンバス法を用いて弛緩反応を検討した。Phenylephrine による収縮が安定した後に、acetylcholine (ACh)、UTP の累積反応を観察した。また、UTP の反応において、nitric oxide synthase (NOS) 阻害、NOS/cyclooxygenase (COX) 阻害、COX/endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) 阻害条件における反応について検討した。【結果・考察】ACh 及び UTP 誘発弛緩反応は、WKY 群と比較し SHR 群において減弱した。UTP による反応は、NOS 阻害下では、弛緩反応よりもむしろ収縮反応が認められ、その収縮は、SHR 群で増大した。EDHF成分を保持した NOS/COX 阻害条件下では、UTP による弛緩反応はSHR 群で減弱した (vs. WKY 群)。また、NO 成分を保持した COX/EDHF 阻害条件下では、UTP による弛緩反応は、SHR 群で減弱傾向であった。これらのことから、SHR の上腸間膜動脈において、UTP の弛緩反応が減弱し、これには、主に EDHF シグナルの減弱と COX 由来の血管収縮性プロスタノイドの増大が関与することが示唆された。

ヒトiPS細胞由来分化心筋細胞の電気生理学的特性に対するペーシング刺激の影響

○佐藤 隆至¹、加地 憲武¹、坂本 多穂¹、行方 衣由紀²、田中 光²、諫田 泰成³、渡邊 泰秀¹、黒川 洵子¹

¹静岡県立大・薬・生体情報分子解析学、²東邦大・薬、³国立医薬品食品衛研・薬理

ヒトiPS細胞由来分化心筋細胞の特性が未熟であることは、創薬応用における課題である。特に、自動能を有し、最大拡張期電位が浅いという分化心筋の電気生理学的特性が、薬効解析に影響を与えうるかについての結論は出ていない。そこで、我々は、ヒトiPS細胞由来心筋細胞に人工的に電気刺激を与えて成熟化させ、薬効および安全性評価に用いる実験系を開発している。これまで、心筋シートを持続的にペーシングすると、拍動数が低下し筋繊維などの形態が成熟化することを示した。今回は、パッチクランプ法による解析で、電気生理学的特性の変化を理解することを目的とした。

標本として、市販ヒトiPS細胞由来心筋細胞 (iCell-cardiomyocytes², CDIJ Fujifilm) をフィブロネクチンでコートした基材上に播種し二次元高密度シートを形成して実験に用いた。細胞シートの培養液中にカーボン電極 (内田電子) を直接挿入し、ペーシング刺激 (>150%閾値 V, 1 ms) を1 Hzで印加し、対照 (非刺激) 群の細胞特性と比較した。ペーシング刺激開始1~2週間後、35 mm ディッシュに再播種し、パッチクランプ法により活動電位および各種イオン電流を測定した。1週間のペーシング刺激により、活動電位の最大拡張期電位が5.3 mV有意に深くなった (非刺激群; -56.7 ± 1.7 mV, $n = 25$, 刺激群; -62.0 ± 1.8 mV, $n = 26$)。活動電位幅 (APD) は、APD₂₀ は55%延長し、APD₅₀ は36%延長した ($p < 0.05$)。電流解析の結果、内向き整流性K⁺ (I_{K1}) 電流 (刺激; -150 mV) は16%増加し ($p < 0.05$)、過分極活性型I_f電流 (刺激電位; -125 mV) は減少傾向がみられた。本結果は、ペーシング刺激により最大拡張期電位が深くなったことに寄与していると示唆される。さらに、L型Ca⁺チャンネル電流を測定し、非選択的βアドレナリン受容体作動薬イソプロテレノールの作用に対するペーシング刺激の影響も検討した。1~2週間のペーシング刺激によって、β受容体刺激に対する薬剤応答が増加している傾向が観察された。以上より、ペーシング刺激によって、ヒトiPS細胞由来分化心筋細胞の電気生理学的特性を成熟化することが強く示唆された。

糖尿病性心筋症における臓器連関を介したNeuregulin-1/ErbB2/4シグナルによる左室収縮機能の維持

○三上 義礼、岩瀬 奎輝、大島 大輔、富田 太一郎、赤羽 悟美
東邦大・医・生理・統合生理

糖尿病性心筋症の特徴として、早期に左室拡張機能障害が起こり、遅れて収縮機能障害を呈する。しかし、その病態進展の機序は不明な点が多い。我々は糖尿病性心筋症のステージ進展の分子メカニズム解明を目的として、本研究を実施した。C57BL/6J雄マウスにstreptozotocin (STZ)を投与することで1型糖尿病モデルを作製した。心機能を心エコー測定により評価したところ、STZ投与4週後 (STZ-4W) に左室拡張機能障害が、STZ投与8週後に左室収縮機能障害が認められた。そこで心保護因子の減少が病態進行に寄与するとの仮説を立て、実行分子を探索した。その結果、予想に反して、心保護因子のひとつNeuregulin-1 (NRG1) の血中濃度がコントロール群に比べSTZ-4W群で有意に増加していた。NRG1 mRNAの発現はSTZ-4W群の心室・腎臓・肝臓において有意に上昇していた。STZ-4W群の心室では血管内皮・心内膜・心外膜でNRG1発現が上昇していた。よって、心筋組織内で産生されたNRG1の心室筋細胞への直接的な作用に加えて、循環血を介した作用が示唆された。そこでNRG1の生理機能を明らかにするべく、NRG1の受容体ErbB2 (HER2) を遮断する目的で抗ErbB2 (HER2) 抗体製剤のTrastuzumab (TRZ) を腹腔内投与した。コントロール群の心機能はTRZ投与による変化が認められなかったのに対して、TRZ投与STZ-4W群ではSTZ-4W群に比較して左室駆出率が有意に低下し、左室収縮機能障害が認められた。心室筋細胞の収縮機能制御に関わる蛋白の局在を免疫染色により解析したところ、TRZ投与STZ-4W群ではT管膜の構造異常、L型Ca²⁺チャネル (Ca_v1.2) のT管膜への集積性の低下と接合膜構造以外への散在が認められた。さらに、NRG1/ErbB2/4シグナル下流のAkt-Ser⁴⁷³のリン酸化レベルはコントロール群に比べSTZ-4W群で有意に低下し、TRZ投与STZ-4W群ではさらに低下していた。以上の結果から、1型糖尿病モデルの糖尿病性心筋症早期ステージにおいて、循環血中や心室で増加したNRG1が左室収縮機能障害への進行を抑制していることを明らかにした。左室拡張機能障害が先行する理由の一部はこの代償機構で説明できると考えられる。

Spontaneously hypertensive rat 摘出頸動脈における 5-HT 収縮反応に対する TRPC3 チャネルの関与

○河井 琴美¹、松本 貴之¹、岡田 愛由¹、堀口 礼衣¹、田口 久美子²、小林 恒雄²

¹星薬科大・薬・薬学教育研究部門、²星薬科大・薬・機能形態学

【目的】細胞内における Ca^{2+} の濃度調節は、生理応答さらには生命維持において重要である。Transient receptor potential (TRP) チャネルは、 Ca^{2+} 流入において近年着目されており、大きなファミリーを形成している。哺乳類における transient receptor potential canonical (TRPC) チャネルには7つのアイソフォーム (TRPC1-TRPC7) があり、TRPC チャネルは心血管疾患の新たな治療標的としても着目されている。しかし、持続的な高血圧時における、血管反応性に対する TRPC3 の役割については不明である。そこで今回、spontaneously hypertensive rat (SHR) の頸動脈を用い、セロトニン (5-HT) 誘発収縮に対する TRPC3 の関与について検討を行った。【方法】雄性 SHR ラットと対照 Wistar Kyoto ラット (WKY) より頸動脈リング標本作成してオルガンバス法を用い収縮反応を検討した。内皮保持標本、内皮除去標本、TRPC3 阻害薬 (Pyr3)、TRPC3 agonist (GSK1702934A) 存在下における反応について検討した。また、phenylephrine 前収縮下における GSK1702934A による弛緩反応を検討した。【結果・考察】SHR 群にて、内皮保持標本における 5-HT 誘発収縮反応の増大が認められた (vs. WKY 群)。また、TRPC3 阻害薬を処置したところ、WKY 群にて、5-HT 誘発収縮が増大したが、SHR 群においては阻害薬による影響はなかった。内皮除去標本では、WKY 群と SHR 群で、5-HT 誘発収縮は同程度であり、TRPC3 阻害薬による影響もなかった。一方、TRPC3 agonist 処置により、SHR 群にて、5-HT 誘発収縮反応の減弱傾向が認められた。TRPC3 agonist による弛緩反応は、WKY 群と SHR 群で変化がなかった。これらのことから、ラット頸動脈における 5-HT 収縮反応に TRPC3 が反応抑制に関与すること、その効果が SHR において減弱することが見出された。

敗血症による心臓電気活動の異常に対する I_{Ks} チャネルの役割

○服部 希海¹、野間口 財¹、児玉 昌美^{1,2}、渡邊 泰秀¹、清水 聡史^{1,3}、永森 収志³、坂本 多穂¹、黒川 洵子¹

¹静岡県立大・院・薬、²順天堂大・医、³東京慈恵会医科大・医

【背景と目的】感染に起因する敗血症の急性症状の1つに、抗菌薬服用とは関連しないQT延長型不整脈が生じることが臨床的に示された。しかし、心臓電気活動に対する炎症による調節機構は全く不明のままである。そこで、私たちは急性炎症時に上昇する Ca^{2+} およびNOシグナルや交感神経シグナルの増強により機能が亢進する、緩徐活性型遅延整流性カリウム(I_{Ks})チャネルに着目した。 I_{Ks} チャネルは、ウサギ・イヌ・ヒトなどの中等サイズ以上のほ乳類にて心筋活動電位の再分極相に寄与する電位依存性カリウムチャネルであり、 α サブユニットKCNQ1と β サブユニットKCNE1で構成される。これらいずれの遺伝子変異も先天性QT延長症候群による不整脈病態に関連する。そこで、我々は、ヒト I_{Ks} チャネルを心臓特異的に発現させた遺伝子改変 (I_{Ks} -Tg) マウスを用いて敗血症モデルを作製し、マウス心室筋活動電位を測定することで、敗血症病態における I_{Ks} チャネルの機能的役割を調べることを目的とした。

【方法】今回使用した I_{Ks} -Tgマウスは、ヒトKCNE1のN末端とヒトKCNQ1のC末端を連結した融合タンパク質を α -MHCプロモーターにより心臓特異的に発現させたマウスである。14週齢のマウスに、野生型C57BL/6Jマウス雄糞便懸濁液を腹腔内注射することにより、敗血症モデルを作成し、生存率およびスコア測定によるin vivo解析を実施した。さらに、糞便懸濁液注射24時間後に摘出した心室からコラゲナーゼ処理によって得られた単離心室筋細胞にて、パッチクランプ法による電流測定および活動電位測定を行った。

【結果・考察】 I_{Ks} -Tgマウス雄は、野生型雄で見られた急性期敗血症ショックによる死亡率が減弱した。さらに、糞便懸濁液投与24時間後において敗血症スコアが有意に減少した。このことから、心筋 I_{Ks} チャネルは敗血症ショックに対し保護的に働くことが示唆された。生理学的条件では、 I_{Ks} チャネルの過剰発現は心室筋活動電位の波形をほとんど影響しないことを過去に見出した。次に活動電位波形の測定では、 I_{Ks} -Tgマウス雄は、野生型雄でみられた敗血症時の活動電位延長が消失した。本結果は、心筋 I_{Ks} チャネルが敗血症による活動電位延長を抑制することで、敗血症重症化を改善する可能性を示唆する。

心臓特異的p300-BP1ノックアウトは圧負荷による心筋肥大及び心不全の進展を軽減させた

○鈴木 悠斗¹、砂川 陽一^{1,2,3}、石間 彩花¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、船本 雅文^{1,2}、清水 聡史¹、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院

【背景】

核内転写コアクチベーターp300のヒストンアセチル化酵素(HAT)活性が心筋肥大に重要であることが明らかになっている。しかしながら、心肥大時不全発症時におけるp300活性化制御機構は不明である。

【目的】

本研究では、p300結合蛋白を同定し、その心筋細胞肥大反応や圧負荷心不全の進展に対する役割を検討した。

【方法・結果】

心臓特異的にFLAGタグ付p300過剰発現マウスの心臓の核蛋白を用いて、FLAG抗体にてp300複合体を精製し、p300結合タンパク質のプロテオミクス解析を行った。その結果、新たなp300結合タンパク質195個を同定し、この中の1つであるp300結合タンパク1 (p300BP1) に着目した。初代培養心筋細胞でp300BP1をsiRNA法によりノックダウン(KD)し、フェニレフリン(PE)にて刺激を行い、48時間培養後に心筋細胞面積測定及び心肥大関連遺伝子のmRNA量、ヒストンのウエスタンブロットを行った。その結果、p300BP1のKDによりPEによる心筋細胞面積や心肥大関連遺伝子のmRNA量、ヒストンのアセチル化の増加を有意に抑制した。反対にp300BP1を過剰発現させると、心筋細胞肥大を誘導した。7~9週齢(体重20~23 g)の雄性心筋細胞特異的なp300BP1ノックアウト(Cardiac specific p300-BP1 knockout: p300BP1-cKO)マウスおよび野生型マウスに、大動脈弓縮窄手術(TAC)及びSham手術を施し、6週間後に心臓超音波検査にて心機能を評価した。その結果、p300BP1-cKOマウスはTACによる左室内径短縮率の低下や左室後壁厚の増加を有意に改善した。心肥大の指標である心体重比、心脛骨長比を算出したところ、TACにより増加したこれらの指標はp300BP1-cKOマウスで有意に減少した。組織学的解析及び心肥大、線維化関連遺伝子のmRNA解析を行ったところ、TACによって増加した心筋細胞面積や血管周囲の線維化、心肥大及び線維化関連遺伝子のmRNA量はp300BP1-cKOでは減少した。

【考察】

本研究より、p300BP1が、心筋細胞肥大反応、圧負荷による心肥大や左室収縮能の低下や心肥大を抑制していることが示された。今後、p300BP1/p300経路を標的とした新規心不全治療薬の開発に繋がることが期待される

圧負荷心臓でのネクローシス経路の活性化における Hsp90 の役割

○進藤 碧乃、丸ノ内 徹郎、田野中 浩一

東京薬科大・薬・分子細胞病態薬理学教室

【目的】慢性心不全での心機能低下に関わる細胞死の1つにネクローシスがある。ネクローシスを惹起する細胞内情報伝達タンパク質の RIP1、RIP3 および MLKL はいずれも heat shock protein 90 (Hsp90) のクライアントタンパク質で、これらの機能制御には Hsp90 による介添えが重要な役割を担う。しかしながら、不全心でのネクローシス経路の活性化における Hsp90 の役割は明らかにされていない。そこで、本研究では圧負荷心不全マウスを用い、心不全進展過程でのネクローシスに及ぼす Hsp90 阻害薬の投与の効果を検討した。

【方法】C57BL/6Nマウスの横行大動脈を縮窄 (TAC) し、心臓への圧負荷を誘発した (TAC 群)。対照群には偽手術を施した (Sham 群)。術後2週目から Hsp90 阻害薬の 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) あるいは vehicle を腹腔内投与し、術後8週目に各種指標を評価した。

【結果・考察】TAC マウスでは、術後8週目で心肥大および心線維化を伴った心収縮機能障害が誘発された。TAC 後から2週おきに心筋組織中での RIP1、RIP3 および MLKL の含量を測定したところ、術後8週目で、これらタンパク質の活性化の指標とされるタンパク質リン酸化レベルが上昇した。一方、17-AAG 投与群では、TAC 後の心肥大および心線維化が軽減され、心機能も保持された。17-AAG 投与群での RIP1、RIP3 および MLKL の心筋組織含量を測定したところ、これらタンパク質のリン酸化レベルの上昇が抑制されていた。本研究での結果から、不全心での RIP1、RIP3 および MLKL の活性化に Hsp90 の介添えが関与すると考えられた。さらに、Hsp90 阻害薬の投与により、ネクローシスの抑制を介して、慢性心不全の進行を妨げられる可能性も提示された。

High throughput screening assay により同定したRFN-409は圧負荷による左室収縮能低下を改善した

○前田 莉沙¹、清水 聡史¹、砂川 陽一^{1,2,3}、浜辺 俊秀^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、船本 雅文^{1,2,4}、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²国立病院機構 京都医療センター 臨床研究センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院・臨床研究部、⁴徳島大・院医歯薬・薬理学分野

【目的】心筋梗塞や高血圧などのストレスが心臓に加わると、最終的に代償機構は破綻し心不全へと至る。心筋細胞肥大を制御することは心不全の予防・治療のターゲットになると考えられる。そこで、本研究では心筋細胞肥大を指標にしたHigh throughput screening (HTS) assayを構築し、低分子化合物ライブラリーより心筋細胞肥大抑制作用を示す新規心不全治療薬の候補化合物を同定し、さらにその中の1つの化合物に着目し、その効果を培養細胞ならびに*in vivo*にて検証した。

【方法・結果】HTS assayによる一次スクリーニングとして、ラット初代培養心筋細胞に最終濃度1 μMとなるように各化合物処理し、30 μMフェニレフリン (PE) で刺激して肥大を誘導した。48時間培養後、蛍光免疫染色を行い、α-actinin陽性心筋細胞面積を測定した。コントロールの面積(PE(-))及びPE刺激で増加した面積(PE(+))を基準に、各化合物の肥大抑制率(%) = [(PE(+)-compound) / (PE(+)-PE(-))] × 100を算出、肥大抑制率が50%以上もしくは150%未満のものをヒット化合物とした。二次スクリーニングでは、PE刺激による心筋細胞肥大を抑制するヒット化合物の濃度依存性を、心筋細胞面積測定及び、リアルタイムPCR法を用いた心肥大反応遺伝子ANFとBNPのmRNA量の測定によって評価した。オリジナル化合物ライブラリーである269個の低分子化合物を検討し、一次・二次スクリーニングにて8個の化合物を選抜した。その中で0.3 μMにて心筋細胞肥大抑制作用を示し、抗腫瘍作用を示すことが報告されている化合物であるReference Number 409 (RFN-409) に着目した。次に、心不全発症・進展に対するRFN-409の効果の検討を行った。8週齢の雄性C57 BL/6Jマウスに大動脈縮窄術 (TAC) を施し、手術翌日にランダムに群分けし、RFN-409 (3, 10 mg/kg) 及び溶媒 (2% DMSO, 30% PEG300, 2% Tween80) の8週間連日腹腔内投与を行った。8週間後の心臓超音波検査の結果、10 mg/kg のRFN-409 はTACによる左室後壁厚の肥厚および左室内径短縮率の低下を有意に抑制した。また、TACにより増大した心体重比、ANFとBNPのmRNA量は10 mg/kg のRFN-409により有意に抑制された。

【考察】HTS assayにより、8個の心筋細胞肥大抑制作用を有する新規心不全治療薬候補化合物を同定した。RFN-409は心筋細胞肥大反応を抑制し、圧負荷による心肥大、左室収縮能の低下を抑制した。今後、より詳細な検討を行うことで、新規心不全治療薬としてRFN-409の臨床応用に繋がることを期待される。

Aciclovirによる陽性変時・変力・変伝導作用の発生機序の解析

○後藤 愛、神林 隆一、中瀬古 (泉) 寛子、武井 義則、杉山 篤
東邦大・医

【目的】抗ウイルス薬aciclovirの有害作用として、動悸、頻脈、不整脈、胸痛、血圧上昇、血圧低下が臨床報告されている。麻酔正常犬を用いた我々の最近の検討では、aciclovir単独投与は陽性変時・変力・変伝導および血圧低下作用を示した。今回、これらの心血管作用の発生機序を検討した。

【方法・結果】[実験1] イソフルラン麻酔犬に β_1 受容体遮断薬atenolol(1 mg/kg/5分, i.v.)を投与後、aciclovir(20 mg/kg/10分, i.v.)の作用を評価し、以前のaciclovir単独投与時の結果と比較した(n=4)。Aciclovirは単独投与時と同様に平均血圧を低下させ、心拍数、心室収縮力および房室結節伝導速度を増加した。しかし単独投与時と比較して β 受容体遮断時には、血圧低下作用は増強傾向を示し(単独:-4 mmHg、遮断:-10 mmHg)、陽性変時(単独:+18 bpm、遮断:+10 bpm)・変力(単独:+1,469 mmHg/s、遮断:+928 mmHg/s)・変伝導(単独:-6 ms、遮断:-2 ms)作用は減弱傾向を示した。[実験2] Aciclovir(10および100 μ mol/L)によるphosphodiesterase(PDE: ウシ心臓由来PDE1A)活性に対する作用を評価し、3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMX;1, 10および100 μ mol/L)と比較した(各n=4)。PDEによるcyclic AMP加水分解基本活性は73.6 nmol/mg/minであった。Aciclovir(10および100 μ mol/L)存在時の活性は70.6および56.0 nmol/mg/min、IBMX(1, 10および100 μ mol/L)存在時の活性は57.4, 32.2および7.1 nmol/mg/minであった。Aciclovir(100 μ mol/L)およびIBMX(1, 10, 100 μ mol/L)は有意にPDE活性を抑制した。

【結論】 Aciclovirは心臓および血管におけるPDE活性を直接阻害することにより、心刺激作用と血管拡張作用を引き起こし、さらに生体内では血圧低下に起因する反射性の交感神経緊張増加が心刺激作用を増強していると考えられた。

MLL1メチル化酵素阻害剤は心臓線維芽細胞の活性化を抑制した

○武田 七虹¹、刀坂 泰史^{1,2,3}、村田 膳行¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²国立病院機構 京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院

【目的】心不全は予後不良であり、慢性的なストレスにより生じる心筋細胞肥大と心臓線維化の2つがその主な要因であると言われている。当研究室ではこれまでにアルギニンメチル化酵素が、心臓線維化に関与していることを見出しており、その他のメチル化酵素も関与している可能性が考えられる。リジンメチル化酵素mixed lineage leukemia (MLL) はWDR5と複合体を形成し、その酵素活性を制御しているが、心臓線維化に対する影響は不明である。そこで本研究の目的は心臓線維化に対するMLL1メチル化酵素複合体の機能を明らかにすることである。

【方法・結果】新生児ラットから単離した初代培養心臓線維芽細胞をWDR5/MLL1の結合阻害剤であるMM102で前処理、もしくはsiRNAによりWDR5又はMLL1をノックダウンした後、transforming growth factor-beta (TGF- β)で線維化反応を誘導した。その後、コラーゲン合成の指標となるL-Prolineの細胞取り込み量と、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化の指標となるalpha-smooth muscle actin (α -SMA)の発現変動を検討した。その結果、TGF- β 刺激によりL-Proline取り込み量および α -SMA発現量は有意に増加したが、MM102処理及びWDR5又はMLL1のノックダウンにより、これらの増加は抑制された。また、同様にTGF- β 刺激により線維化を誘導した細胞のmRNAを抽出しqRT-PCRで定量したところ、線維化マーカーであるcollagen1A1

(col1A1)および α -SMAの発現増加が、MM102処理で有意に抑制された。さらにクロマチン免疫沈降法によりヒストンのメチル化変動を検討したところ、TGF- β 刺激でcol1A1および α -SMAのプロモーター部位におけるヒストンH3K4のトリメチル化が有意に増加しており、またその増加はMM102処理により抑制された。

【考察】以上の結果から、WDR5/MLL1メチル化酵素複合体はTGF- β シグナルにおいて、ヒストンH3K4のトリメチル化を介して線維化反応を亢進することが示され、新たな心不全治療のターゲットとなる可能性が示唆された。

Carvedilolが糖尿病性血管内皮機能障害を改善するメカニズムの解析

○横井 菜々子、田口 久美子、石井 梨紗、佐能 優里、増川 陽美、石井 萌々華、上原 幸帆、
松本 貴之、小林 恒雄

星薬大・薬・機能形態学

【目的】 糖尿病の長期的な罹患は血管内皮機能障害を引き起こし、様々な合併症発症のリスクをあげる。当研究室では、糖尿病時、G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) 活性上昇がAkt/endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 経路の活性を抑制し、胸部大動脈における血管内皮機能障害を起こすことを報告してきた。一方、 $\alpha\beta$ 受容体遮断薬であるCarvedilolは降圧薬や心不全治療薬として使用されているが、Akt/eNOS経路への影響は明らかとなっていない。そこで、本研究では、Carvedilolが糖尿病時に減弱した α_2 受容体刺激薬によるAkt/eNOS経路を介した血管内皮依存性弛緩反応を改善させるかに着眼し、その作用機序について検討を行った。【方法】 Nicotinamide (1.5 g/kg; i.p) と streptozotocin (200 mg/kg; i.v) により作成した2型糖尿病モデルマウス (DM群) および対照マウス (Control群) から胸部大動脈を摘出後、各種薬物による血管反応やNO産生、各タンパク量の測定を行った。【結果・考察】 Carvedilol 刺激は、DM群でNO産生量の減少により減弱していたUK14304 (UK) 誘発内皮依存性血管弛緩反応を改善させた。さらに、Control群と比較してUK刺激によるAktおよびeNOS活性がDM群で減少していたが、Carvedilol処置により改善した。このことからCarvedilolがGRK2活性を制御し、Akt活性を上昇させたのではないかと考え、Carvedilol処置によるGRK2活性を検証したが、DM群におけるGRK2活性の上昇はCarvedilol処置で変化が認められなかった。しかし、GRK2と拮抗関係を示すタンパクである β アレスチンは、DM群でControl群と比較し、細胞膜上で減少し、Carvedilol処置により上昇した。この結果は、糖尿病時にCarvedilolが β アレスチンの膜移行を促した可能性を示唆している。以上、本研究により、糖尿病時、Carvedilolは、GRK2活性へ影響を与えることなく、 β アレスチンを膜移行させることで、UK刺激によるAkt/eNOS活性を上昇させ、NO産生の増加により血管内皮機能を改善させている可能性が示された。

抗寄生虫薬ivermectinの心臓安全性薬理学的特性分析：イソフルラン麻酔犬を用いたICH S7Bガイドラインフォローアップ試験

○鈴木 伸幸¹、神林 隆一²、後藤 愛²、中瀬古（泉） 寛子²、武井 義則²、内藤 篤彦¹、杉山 篤²

¹東邦大・院医・生理学講座細胞生理学、²東邦大・医・薬理学講座

【背景】 Ivermectinは国内外で1980年代から使用されてきた抗寄生虫薬である。新型コロナウイルス感染症（COVID-19）流行当初はその有効性が期待され、治療薬としての適応拡大が検討された。2005年にICH S7Bが施行される前に上市された薬剤であることから、本ガイドラインに沿った心臓安全性薬理評価が十分に実施されていないため、適応拡大の判断が困難であった。そこで、ICH S7Bガイドラインにおけるフォローアップ試験の一つであるイソフルラン麻酔犬を用いてivermectinの電気薬理作用を評価した。

【方法】 体重約10 kgのビーグル犬をthiopental（30 mg/kg、i.v.）により麻酔を導入し、isoflurane（1.5-2.5%）を吸入させ、麻酔を維持した。臨床用量における最高血中濃度の3および30倍の血中濃度を達成すると推定される用量として、0.1および1 mg/kgのivermectinをそれぞれ10分間かけて累積的に静脈内投与した。低用量投与開始5、10、15、20、30分後および高用量投与開始5、10、15、20、30、45、60分後の心行動態および電気生理学的指標を測定した（n=4）。

【結果】 低用量のivermectinは各心行動態指標を有意に変化させなかった。高用量は心拍数を投与開始45-60分後に低下させ、心拍出量を10分後に増加させたが、他の心行動態指標には有意な変化を認めなかった。一方、電気生理学的指標に対しては、ivermectinは、QT間隔、QTcVおよび $T_{peak}-T_{end}$ を用量依存的に延長させ、各指標のコントロール値からの最大変化量はそれぞれ、+25 ms、+20 msおよび+15 msであった。PR間隔、QRS幅、AH間隔、HV間隔およびJ-T_{peakC}には有意な変化を認めなかった。また、低用量は再分極終末相持続時間を投与開始15および30分後に延長させたが、高用量は心室有効不応期を投与開始30-60分後に延長した。

【結論】 Ivermectinは、心行動態に大きな影響を与えなかった。また、QT間隔、後期再分極時間および再分極終末相持続時間を僅かに延長したが、早期再分極時間は不変であり、torsade de pointsを誘発する可能性は低く、単独投与では心臓安全性上の懸念は少ないと考えられた。

Esaxerenoneはmicroparticles産生を減少させることで糖尿病性血管内皮機能障害を抑制した

○北村 玲奈、田口 久美子、石垣 実乃、阿部 美鈴、岩崎 彩音、金子 真由奈、松本 貴之、
小林 恒雄

星薬大・薬・機能形態学

【目的】 糖尿病の長期的な罹患は、脳梗塞や心筋梗塞など様々な合併症発症のリスクをあげる。これら糖尿病性合併症は血管内皮機能障害に起因すると言われている。当研究室では、糖尿病時、extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2を含有するmicroparticles (MPs)と呼ばれる細胞小胞が多く産生放出され、このMPsが血管内皮細胞に接着することで、さらにendothelial NO synthase (eNOS)を含有するMPsを再放出し、血管内皮機能障害を引き起こすことを報告してきた。一方、ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 拮抗薬は糖尿病性血管合併症に著効を示すとの報告があるものの、その詳細な機序は明らかとなっていない。そこで、今回、選択的MRブロッカーであるesaxerenone (ESAX) を用いて、ESAXが糖尿病マウスの血管内皮機能障害を改善させるかに着目し、その作用機序とMPsの関係性について検討を行った。【方法】 Streptozotocin (200 mg/kg; i.v) により誘導した糖尿病モデルマウス (DM群) およびControl群に8週間ESAX含有飼料を与え、MPsの作成および胸部大動脈の摘出を行い、血管機能の検討をした。【結果・考察】 Control群に対し、DM群において内皮依存性血管弛緩反応の減弱が認められたが、ESAXを処置することで改善することが明らかとなった。さらに、各群から採取したMPsを同量ずつ処置したところ、DM群由来のMPs処置時のみ内皮依存性弛緩反応の減弱が確認され、ESAX負荷したDM群由来のMPs処置時にはControl群由来MPs処置時と変化がなかった。血小板由来MPs量およびMPs中に含まれるeNOSとERK1/2量は、Control群に対し、DM群で増加し、ESAX負荷によりControl群と同程度まで改善が認められた。今回の結果は、ESAX負荷はERK1/2含有血小板由来MPsの産生を抑え、内皮細胞へのMPs接着を回避し、eNOS含有MPs放出を抑制した可能性を示唆した。さらに、糖尿病時増加している接着因子intercellular adhesion molecule (ICAM)-1の誘導阻害剤存在下、各群由来MPsを処置したところ、DM群由来MPsにおいてのみ血管弛緩反応の増大が確認された。これらの結果から、糖尿病時産生放出される血小板由来MPsは、ICAM-1の誘導によりMPsの強固な接着を生み、eNOS含有MPsのさらなる放出を促すことで、NO産生の減少から血管内皮機能障害を生じさせることが示唆された。さらに、ESAXはMPs産生放出を抑制させ血管機能障害を抑える可能性が示唆された。

完全房室ブロックウサギモデルによる吸入麻酔薬sevofluraneおよび静脈麻酔薬propofolが有する催不整脈作用特性の分析

○海野 和恵、川上 聡士、相本 恵美、永澤 悦伸、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【背景と目的】麻酔薬に催不整脈作用があることは臨床での経験則から認識されているものの、催不整脈作用の強度や特性を実験的に示した情報は少ない。本研究では完全房室ブロック術を施したウサギ催不整脈モデルを用い、sevofluraneとpropofolが有する催不整脈作用特性の相違を電気生理学的手法により明確にすることを目的とした。

【方法】 Sevofluraneまたはpropofolで麻酔したNZWウサギで完全房室ブロックを作製し、体表面心電図と右室単相性活動電位（MAP）を記録した。実験1では右室をペーシング下（刺激間隔1000 ms）で I_{Kr} 遮断薬dofetilide（1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, i.v.）を投与し、心室期外収縮（PVC）やtorsade de pointes（TdP）などの不整脈の発生を観察した。実験2ではdofetilide投与中におけるMAP持続時間（MAP₉₀）と有効不応期（ERP）を基本刺激間隔300～1000 msで測定した。電氣的受攻期である活動電位終末相（TRP）はMAP₉₀－ERPより求めた。

【結果】 実験1で、dofetilideはsevoflurane群（S群、n=6）とpropofol群（P群、n=6）でQT間隔とMAP₉₀を有意に延長させ、R on T PVCおよびTdPの発生を認めた。DofetilideによるTdP発生はS群で6例中4例に、P群で6例中1例に認めた。またTdP発生前のR on T PVCの平均出現数は、S群で16回/30秒、P群で6回/30秒であった。実験2で、dofetilideによるMAP₉₀とERPの延長作用はP群に比べてS群で、特に低頻度刺激条件で強く認められた。TRPはS群に比べてP群で大きく、S群ではERP測定時に期外刺激による不整脈誘発は認められなかったのに対し、P群では不整脈が6例中2例に誘発された。

【結論】 DofetilideによるTdPの自然発生はP群に比べてS群で多く出現し、ERP測定中の期外刺激で誘発される不整脈はS群に比べてP群で多く観察され、dofetilideによる不整脈発生プロセスに与える麻酔薬の影響はpropofolとsevofluraneで異なると推定された。心筋再分極過程の制御機構に異常を伴う患者に麻酔薬を選択する際の留意点になると考えられる。

ギャンブル依存の形成に対する大脳基底核-ドーパミン系の関与

○太田 宏之¹、野澤 孝司²、今野 歩³、石塚 俊晶¹

¹防衛医科大・医学科・薬理、²目白大学、³群馬大・院医

ギャンブル依存症の形成には、大脳基底核-ドーパミン系が関与しているものと考えられている。しかし、適切な動物モデルが確立されていないため、その形成メカニズムは不明であった。近年、遅延報酬条件において、報酬の有無に関する手がかり刺激が遅延期間中に提示されると、報酬の確率を無視して、手がかり刺激を得られる特定のプロセスに対する選好性が高まることが明らかとなってきた。そこで本研究では、報酬の有無を示す手がかりが10秒間提示される予測可能な選択肢と、報酬と無関係な手がかりが10秒間提示される予測不可能な選択肢を持った2選択課題を開発し、ドーパミン系の修飾による行動の変化を計測した。実験の結果、C57BL6野生型マウス(コントロール群)は選択肢間の報酬の確率が同等である場合、予測可能な選択肢を選択する傾向があった。また、予測不可能な選択肢の報酬確率は一定のままであっても、予測可能な選択肢の報酬確率を下げると、報酬確率の低い(不利益となる)予測可能な選択肢を選択し続ける傾向があった。さらに、L-DOPAとDOPAデカルボキシラーゼ阻害剤Benserazideを投与したマウス群では、予測可能な選択肢へのトラッキング行動と予測可能な選択肢の選択率が増加した。予測不可能な手がかり刺激へのトラッキング行動は減少した。一方、線条体のD₂受容体発現ニューロンを選択的に除去した群では、報酬を予告する手がかりに対するトラッキング行動と予測可能な選択肢の選択率が減少した。これらの結果から、大脳基底核-ドーパミン系が、報酬を予告する手がかりと選択肢に対するトラッキング行動と不利益な選択行動の維持に関与していることが明らかとなった。

うつ病の無快感発症機序における腹側海馬GABA神経障害の関与

○岩井 孝志、吉川 聡美、高木 郁海、小林 采香、尾山 実砂、渡辺 俊、田辺 光男
北里大・薬

患者死後脳や動物モデルにおいてGABA神経が減少していることから、うつ病の発症にGABA神経障害が関与することが示唆されている。一方、快感・動機づけ行動に重要な脳領域である側坐核では、BDNFを介したERK経路の活性化がうつ病の症状である無快感の誘導に関与すると考えられているが、これら2つの関連は知られていない。本研究では、ストレス制御に重要な領域である腹側海馬におけるGABA神経の減少が、無快感やその発症機序と考えられている側坐核ERK活性化を生じるか否かについて検討した。

ddY系雄性マウス(6週齢)を使用した。GABA神経細胞死を誘導するため、マウスの両側腹側海馬にサポリン標識抗GABA transporter 1抗体 (GAT1-SAP; 34.7 ng/0.5 mL/mouse)を局所投与し、対照群として等量のPBSを投与した。投与7日目以降に、無快感の誘導を評価するため、ショ糖嗜好性試験を行った。蛍光免疫染色を行うために、投与16日目にマウスを灌流固定し、凍結脳切片を作製した。GAT1-SPの標的であるGAT1を発現するGABA神経およびアストロサイトへの毒性を評価するために、腹側および背側海馬におけるparvalbumin (PV)陽性GABA神経細胞数およびGFAP陽性細胞数を測定した。側坐核におけるERK活性化を評価するために、リン酸化ERK陽性細胞数を測定した。

GAT1-SAP投与群は、PBS投与群と比較してショ糖嗜好性が有意に減少しており、無快感が認められた。海馬のPV陽性GABA神経細胞数は、GAT1-SAP投与群の腹側部でのみ減少が見られ、背側部では影響が認められなかった。一方、GFAP陽性細胞数は、両群間に有意な差は認められなかった。側坐核におけるリン酸化ERK陽性細胞数は、GAT1-SAP投与群において有意に増加した。以上より、腹側海馬におけるGABA神経細胞死は、無快感とその発症機序と考えられている側坐核ERK活性化を誘導することが明らかになった。

新皮質脳波への急性低酸素状態の影響

○河村 優志¹、吉本 愛梨¹、松本 信佳^{1,2}、池谷 裕二^{1,2}

¹東京大・院薬・薬品作用学教室、²東京大学 Beyond AI 研究推進機構

酸素は動物の生存に不可欠であり、空気中の酸素濃度が低下すると末梢臓器に深刻な影響を与える。酸素濃度を変化させることで、低酸素曝露が呼吸数や心拍数 (Arias-Reyes et al., 2021; Masao H. & Tetsuo N., 1982)、認知機能 (Wang et al., 2022) に及ぼす影響が広範囲に調査されてきた。さらに別の先行研究では、高地条件を模倣し、高地条件下では脳波がデルタ振動が再編成する方向に変化することが実証されている (Akopyan et al., 1984)。しかし低酸素が皮質脳波 (ECoG) に及ぼす影響、特に低酸素状態での酸素濃度変化の純粋な影響についてはほとんど知られていない。

そこで気圧を標準気圧 (1気圧) に保ったまま、酸素濃度のみを変化させる実験系を構築し、酸素濃度変化が神経活動に及ぼす純粋な影響を検証した。神経活動については、急性低酸素曝露へのECoGsの反応を確認するために、自由行動ラットの一次運動野、一次体性感覚野、前帯状皮質からECoGsを同時記録した。また、嗅上皮、後頸部、胸部に埋め込んだワイヤー電極により、呼吸シグナル、心電図、筋電図を記録した。酸素濃度は酸素ガスと窒素ガスをチャンバー内に送り込むことで制御した。取得したECoGsと筋電図から、高速フーリエ変換によりパワースペクトルを算出した。ECoGsの各周波数帯 (0.3-4Hz (デルタ)、4-8Hz (シータ)、8-15Hz (アルファ)、15-30Hz (ベータ)、30-90Hz (ガンマ)) の正規化パワーは、各周波数帯のスペクトル下面積と全周波数帯のスペクトル下面積 (0.3-90Hz) の比と定義した。呼吸シグナルと心電図から呼吸数と心拍数を算出した。

先行研究と一致し、呼吸数と心拍数は低酸素曝露により増加した。また、一次運動皮質ではアルファ周波数帯のパワーが特異的に減少したが、一次体性感覚皮質と前帯状皮質では減少しなかった。この変化は、EMG振幅の変化とは相関がなかった。これらの結果は、大脳新皮質の異なる領域が低酸素曝露に異なる反応を示すことを示唆しており、低酸素に対する領域特異的な反応の違いの根底にあるメカニズムを解明するため、さらなる研究が期待される。

細胞内SMレベルの減少はアストロサイトの活性化を抑制する

○門脇 凌、本田 拓也、中村 浩之

千葉大・院薬・薬効薬理学

【背景・目的】アストロサイトは中枢神経系（CNS）を構成するグリア細胞の1つであり、グリア細胞の約30%を占めている。定常状態のアストロサイトは神経伝達物質の放出や取り込みを行うことで、CNSの恒常性維持・ニューロン保護などを行う。一方で、神経変性疾患の病態下においてアストロサイトはIL-1 α やTNF- α などの炎症性サイトカインにより活性化しCNSの恒常性の破綻や、ニューロン傷害を引き起こす。本研究ではスフィンゴ脂質の1つであるスフィンゴミエリン（SM）に着目し、SMによるアストロサイトの活性化制御機構の解明を目的とし解析を行った。

【方法】ヒトアストロサイトモデル細胞として、不死化ヒトアストロサイトであるHASTR/ci35を使用した。HASTR/ci35に対し細胞内SMレベルを変化させた後、IL-1 α およびTNF- α を処置し、アストロサイト活性化マーカーのmRNA発現量およびタンパク質発現量をqPCR法およびウェスタンブロットティング（WB）法により解析した。また、細胞内SMレベルを変化させた際のNF- κ B経路の活性化の変化をWB法および蛍光免疫染色法により解析した。

【結果】中性スフィンゴミエリナーゼの阻害剤であるGW4869を処理することで細胞内のSMレベルを増加させると、IL-1 α およびTNF- α によるアストロサイト活性化マーカーのmRNA発現量・タンパク質発現量が増加した。また、SMを外部添加することによってもアストロサイトの活性化マーカーの発現量は増加した。一方SM合成酵素1または2をノックダウンすることで、IL-1 α およびTNF- α によるアストロサイト活性化マーカーのmRNA発現量・タンパク質発現量は減少した。さらに、セラミド輸送タンパク質（CERT）をノックダウンしSMを選択的に減少させた場合においても同様に、アストロサイト活性化マーカーの発現量は減少し、SMを外部添加することで発現量の減少が回復した。次に細胞内SMの減少がアストロサイトの活性化を抑制するメカニズムを解析するために、アストロサイトの主要な活性化経路であるNF- κ B経路とSMの関係を解析した。CERTをノックダウンし細胞内SMレベルを減少させることで、I κ B α のリン酸化レベル、I κ B α の発現量、NF- κ B-p65のリン酸化レベルおよび核移行は変化しなかった。また、NF- κ B経路の阻害剤であるTPCA-1を処理することでアストロサイト活性化マーカーの発現量が減少した。以上の結果から、細胞内SMの減少はNF- κ Bの核移行より後に作用しアストロサイトの活性化を抑制することが示唆された。

選択的オピオイドδ受容体作動薬KNT-127は恐怖記憶の再発を抑制する

○畠山 梓摘¹、河南 絢子¹、山田 大輔¹、吉岡 寿倫¹、梶野 景太²、斉藤 毅³、長瀬 博⁴、斎藤 顕宜¹
¹東京理科大・院薬・薬科学専攻、²筑波大・数理工学系・化学域 製薬化学分野、³筑波大・国際統合睡眠医科学研究機構、⁴筑波大

【目的】 恐怖記憶の消去は、恐怖を抑制する記憶過程の一つであり、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の病態の一つとして、この消去の異常が知られている。そのため、消去を正常化または促進する作用を持つ薬物は、PTSD治療に有用であると考えられる。一方で、恐怖消去後、時間経過によって恐怖が再発する Spontaneous fear recovery (SFR) という現象がPTSD治療における課題となっている。我々は選択的オピオイドδ受容体 (DOP) 作動薬の恐怖消去促進作用を報告してきたが、SFRに対する作用は不明である。そこで本研究では、異なる構造を持つ二種類の選択的DOP作動薬KNT-127とSNC80を用いて、SFRに対する作用について検討を行なった。

【方法】 雄性C57BL/6Jマウス (6週齢) を用いて文脈的恐怖条件づけ試験を行った。1日目に実験箱内で電気刺激 (0.8mA、1秒間、30秒間隔で8回) を与え条件づけを行った。2~4日目に1日目と同じ実験箱に15分間再暴露し、その28日後に同様の箱への再曝露を行った。KNT-127 (10 mg/kg) とSNC80 (3 mg/kg) は2日目の再曝露30分前に、選択的DOP拮抗薬Naltrindole (NTI) はKNT-127の30分前に皮下投与した。恐怖記憶の程度は、各試験中にマウスが示したすみ行動時間を計測することにより評価した。

【結果・考察】 KNT-127投与群では、Saline投与群に比べて2日目の再曝露におけるfreezing率が有意に低下した。また、28日後の再曝露におけるFreezing率もSaline投与群、SNC80投与群と比較して有意に低下した。このことから、KNT-127はspontaneous recoveryを抑制することが示唆された。一方、SNC80を皮下投与したマウスでは、2日目におけるfreezing率はSaline投与群に比べて有意に低下したが、3日目以降は変化が見られず、28日後にはSaline投与群と同程度のFreezing率を示した。先行研究から、KNT-127はSNC80とは異なり、DOPを介して恐怖消去を促進することが明らかとなっている。したがって、KNT-127は恐怖記憶の消去を促進し、かつ消去後の再発事象を抑制する画期的なPTSD治療薬候補となる可能性が示唆された。

発達期扁桃体における axo-axonic シナプス形成の解析

○林 涼太¹、池谷 裕二^{1,2}、森川 勝太^{1,3}

¹東京大・薬・薬科学科、²東京大・Beyond AI研究推進機構、³東京大・理・分子神経生理学教室

扁桃体は学習や情動処理を司る脳領域であり、その中でも、扁桃体外側基底核 (BLA) は記憶の形成・貯蔵において中心的な役割を果たす。GABA作動性の抑制性神経細胞は、BLAにおいて多段階の局所回路を形成し、学習依存的な神経回路の活動変化を制御していることが示されてきた。しかしながら、BLAにおける局所回路が生後発達の過程においてどのように構築されるのかについてはよくわかっていない。重要なこととして、抑制性神経細胞は形態学的・電気生理学的特性によって定義されるサブタイプごとに異なる機能を有する多様な神経細胞集団である。そこで、まず本研究では、神経細胞の軸索起始部を選択的にシナプスを形成し、他の抑制性神経細胞にはない形態学的特徴を示す axo-axonic cells (AACs) の生後発達過程におけるシナプス形成を調べることで、情動回路構築メカニズムを明らかにすることを目指した。まず、全抑制性神経細胞を蛍光タンパク質で標識した遺伝子改変マウスから固定脳スライスサンプルを、生後8, 12, 16, 20, 23, 30, 60日目から作成し、免疫組織染色によって軸索起始部に形成されるシナプス数、シナプス体積を定量した。その結果、axo-axonicシナプスは生後12日から20日にかけて数および体積が有意に増加し、この増加は生後20日で定常状態に達することがわかった。また、興味深いことに、axo-axonicシナプス数は細胞ごとに偏りがあることがわかった。そこで次に、成体マウスにおいて、axo-axonicシナプスの質的・量的変化が経験依存的に生じるのかを調べるために、生後6週齢のマウスに対して1日2時間の拘束ストレスを10日間処置した。その結果、拘束ストレス処置群は、対照群と比較して axo-axonicシナプス密度が増加する傾向が得られた。

以上のことから、BLAにおいて AACs は生後発達過程においてシナプス形成を行うこと、経験依存的なシナプス調節機構が存在することが示唆された。

Ca²⁺イメージセンサーを用いた海馬の細胞外Ca²⁺の可視化

○パラジュリ ビージェイ^{1,2}、土井 英生³、繁富 英治^{1,2}、鈴木 秀明^{1,2}、野田 俊彦³、高橋 一浩³、澤田 和明³、小泉 修一^{1,2}

¹山梨大・大学院医学工学総合研究部・薬理、²山梨大・GLIAセンター、³豊橋技術科学大学・電気・電子情報工学系

Extracellular calcium ion ($[Ca^{2+}]_o$) change occurring during physiological and pathological conditions play important roles in regulation of brain functions, but has received limited attention due to the lack of easy to use device. Here, we show the development and application of highly selective calcium image sensor for the imaging of glutamate-induced $[Ca^{2+}]_o$ change in hippocampal slices. Using this sensor, we found that glutamate decreased $[Ca^{2+}]_o$ by more than 50% with different spatiotemporal patterns. The glutamate-evoked decrease in $[Ca^{2+}]_o$ was inhibited by a NMDA receptor antagonist D-AP5 but not AMPA receptor antagonist CNQX, and mimicked by NMDA. The spatial pattern of the glutamate-evoked $[Ca^{2+}]_o$ decrease was associated with that of distribution of NMDA receptors in the hippocampus. Moreover, using an ATP-imaging fluorescent probe, we found that the stimulation with NMDA triggered increase in ATP release from astrocytes via either connexin hemichannels. The NMDA-evoked ATP release was mediated by decrease in $[Ca^{2+}]_o$ because the astrocytic ATP release was mimicked by Ca^{2+} -free medium. Taken together, using the newly developed Ca^{2+} image sensor, we demonstrated that $[Ca^{2+}]_o$ is dramatically decreased during excitatory synaptic transmission by glutamate, and $[Ca^{2+}]_o$ decrease act as a signal that transmits neuronal excitation to astrocytes via ATP release. The application of this Ca^{2+} sensor is expected to clarify the physiological and pathophysiological roles of $[Ca^{2+}]_o$, which have received limited attention so far.

画像処理と機械学習によるラットやマウスの新規物探索行動試験の自動化

○岸 拓也¹、港 高志¹、江上 由美¹、小林 幸司^{1,2}、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学研究室、²東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室

【背景・目的】

ラットやマウスを用いた新規物探索行動試験は、動物の認知能力を評価する目的で行われる。この試験は、実験者が目視で結果を判定する必要があるため、結果の再現性や客観性、実験者間差などが課題となる。また、長時間実験者が集中して観察する必要もある。現在、撮影した動画を用いて探索行動を自動評価するシステムは存在するが、その精度は十分ではない。そこで本研究では、撮影された動画に対して画像処理と機械学習を用いて、より正確かつ自動的にマウスの探索行動を検出できるシステムを開発することを目的とした。

【方法・結果】

新規物探索試験用のケージ内に、探索対象の物体となる培養フラスコを2つ配置し、BALB/c マウスの行動をビデオカメラで撮影した。動画を撮影した後にフレーム画像に分割し、「探索行動」と「非探索行動」を目視で観察して分類した。「探索行動」はマウスが物体を見ながら触る・嗅ぐ行動と定義した。ただし「物体に乗っている」状態は除外した。「非探索行動」はそれ以外の行動と定義した。

次に、各フレーム画像中のマウスの位置を過去に作製した機械学習モデルによって推定した。そして、マウスと物体の位置情報を、目視で観察して付けた「探索行動・非探索行動」のラベルとともに、探索行動推定のための機械学習モデルに入力して学習を行った。その後、機械学習モデルのハイパーパラメーターの調節を繰り返し、「探索行動・非探索行動」の検出精度を高めた。最後に、機械学習モデルの性能を評価した。マウスの探索行動の動画を新たに撮影し、上記で作製した機械学習モデルを用いて探索行動の推定を行った。この結果とヒトが目視で行った「探索行動・非探索行動」ラベルとの比較を行ったところ、機械学習モデルは、感度89.5%・陽性的中率90.7%という高い精度でマウスの探索行動を検出することができた。

【結論】

本研究では、画像と機械学習を用いて、高い感度と陽性的中率でマウスの探索行動を検出できる技術の確立に成功した。今後は、学習用データを増やしてより汎用性を高めるとともに、複数セットの動画を用いた再現性の確認をするなどして、本システムの実用化につなげていきたい。

A β 産生制御におけるAPP-PlexinAシグナルの機能解析

○関口 拓己^{1,2}、櫻井 隆²、山下 直也^{2,3}

¹順天堂大・医・6年、²順天堂大・医・薬理、³神奈川工大・応用バイオ

アルツハイマー病(AD)は認知症を引き起こす代表的な神経変性疾患であり、高齢化が進む本邦において克服すべき疾患の1つである。AD病理において中心的役割を果たすと考えられているアミロイド β (A β)は、アミロイド β 前駆タンパク質(APP)の切断を介して産生される。APPの代謝には、A β を産生するアミロイド経路とA β を産生しない非アミロイド経路の2つが存在する。脳内でこれらの均衡が破綻して、A β が過剰に産生されることがAD発症に繋がると考えられるが、その詳細な分子機構は不明である。

我々は、AD患者脳において発現上昇が知られているSemaphorin3A(Sema3A)シグナルとA β 産生との関連を見出した。まず、HEK細胞株を用いた共免疫沈降実験により、Sema3A受容体構成因子であるPlexinAが、A β 前駆体のAPPと互いの細胞外領域を介して相互作用することを見出し、それぞれの相互作用領域を100アミノ酸領域以下まで絞り込むことに成功した。そこで、APP-PlexinA相互作用がAPPの代謝にどのような影響を与えるかを検討した。先行研究により、APPは神経成長因子NGFの受容体であるTrkAと相互作用して、非アミロイド経路を活性化し、A β 産生を抑制することが知られている。我々は、PlexinAが発現量依存的にAPP-TrkA相互作用を抑制することを発見した。さらに、初代培養ニューロンにSema3Aを投与することで、NGF刺激による非アミロイド経路の誘導作用が抑制されることが分かった。

以上の結果から、APP-PlexinA相互作用がAPP-TrkA相互作用による非アミロイド経路の活性化を抑制し、A β 過剰産生を引き起こす可能性が示された。A β 産生制御においてAPP、PlexinA、TrkAの三者間の相互作用調節が重要であることが示唆されたことから、Sema3AとNGFの均衡の崩壊とAD発症との関連を示すことで、PlexinAをターゲットとしたADの診断や予防・治療法の確立が期待される。

アストロサイトが影響する転移性脳腫瘍の特性

○加藤 大皓¹、大川 柊弥¹、佐藤 圭汰朗¹、後藤 杏子¹、渡邊 麻央¹、畠山 浩人²、樋坂 章博¹、佐藤 洋美¹

¹千葉大・院薬・臨床薬理学研究室、²千葉大・院薬・薬物学研究室

転移性脳腫瘍 (BrM) は通常のがん化学療法が奏功しないという課題がある。BrMの薬剤耐性獲得は、BrMからアストロサイト (AST) へのギャップジャンクション (GJ) を介して伝達される2'3'-cyclic GMP-AMP (cGAMP) によってAST内のSTINGが活性化し、放出された炎症性サイトカインが腫瘍の生存シグナルを活性化させるという機序が考えられている。ただし、この報告に用いられているのは肺がんと乳がんの細胞株であり、他の臓器由来のがん種でcGAS-STING経路の寄与が説明できるのかは不明である。この経路の影響はASTとの間で異種細胞間GJが形成されやすいか、またASTが放出する物質に寄与を受けやすいかどうかに関与すると推察される。そこで本研究ではがん細胞種によってASTによる影響が異なるのか確認するために、複数のがん細胞株をASTと共培養した場合の薬剤感受性の変化を評価し、共培養の影響度合いを比較した。また、GJを形成する因子の1つであるPCDH7についても検討を行った。

BrMを発症すると報告されているがん細胞種由来の細胞株をそれぞれASTと1:1で混合し、シスプラチン (CDDP) 感受性をごん細胞単独培養と比較した。その結果、メラノーマ(B16 4A5)と腎細胞がん (786-O) は、ASTとの共培養によりCDDP感受性の低下が認められ、乳がん細胞 (MDA-MB-231)で確認された傾向と一致することがわかった。また、BrMの頻度が高いことで知られる乳がん(MDA-MB-231)、肺がん(A549)、メラノーマ(B16 4A5)では、cGAMPまたはcGAMP合成酵素 (cGAS) とSTINGの発現量の間にも負の相関が観察された。一方、腎細胞がん (786-O)や大腸がん(HCT-15)ではその傾向から外れているようであり、cGAS-STING経路に対するASTの影響は一義的ではない可能性が示唆された。また、B16 4A5を用いて作製したBrMモデルマウスでは、腫瘍部周辺のGJをサポートするPCDH7の発現亢進が確認された。In vitroで培養したB16 4A5ではPCDH7の発現がほぼ検出されず、脳内のASTを含む腫瘍微小環境がこの発現亢進に関与した可能性があり、相互作用の実体として現在検討を進めている。

クルクミン類縁体の化合物は膠芽腫に対してクルクミンよりも低濃度で抗腫瘍作用を示した

○伊藤 亮¹、浜辺 俊秀^{1,2,3}、小野 雅也¹、岩清水 苑夏¹、稲井 恭子¹、砂川 陽一^{1,2,3}、刀坂 泰史^{1,2,3}、荒川 芳輝⁴、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大・薬・分子病態学分野、²独立行政法人国立病院機構京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院、⁴京都大学医学部附属病院・脳神経外科

目的】 膠芽腫は神経膠腫の中で最も悪性度が高く、極めて予後不良な疾患である。膠芽腫を含めた癌の多くは異なる遺伝子変異をもつ不均一な細胞集団であり、治療抵抗性の原因となっている。そのため、それぞれの遺伝子変異型に有効な複数の治療薬投与によって薬物療法を強化する必要がある。しかし、膠芽腫患者の生命予後を改善する治療薬はテモゾロミドのみであるため、新規治療薬の創出が望まれている。膠芽腫に対して抗腫瘍作用を示す天然化合物としてクルクミン (Cur) が報告されているが、Curはバイオアベイラビリティが低く臨床応用が困難であるという問題点がある。そこで我々は胃癌細胞に対しCurより強い抗腫瘍作用を示すCur類縁体の化合物Aに着目し、化合物AとCurの膠芽腫に対する抗腫瘍作用を比較検討することを目的とした。

【方法・結果】 ヒト膠芽腫細胞株であるU87-MG及びU251細胞へCur及び化合物Aを投与し、MTT assayの結果からIC₅₀値を算出した。IC₅₀値はU87-MGではそれぞれCur 9.78 μM、化合物A 2.42 μM、U251細胞ではそれぞれCur 9.50 μM、化合物A 2.27 μMであった。次に、正常細胞への影響を検討するため、初代培養ラットアストロサイトを用いて同様にMTT assayを行った。膠芽腫細胞株において細胞生存率が低下したCur及び化合物Aの濃度では、初代培養ラットアストロサイトの生存率は低下しなかった。続いて、U87-MGをCur及び化合物Aで処理し、PI染色及びAnnexin V-PI染色を行った後、フローサイトメトリーにて細胞周期及びアポトーシスへの影響を評価した。化合物AはCurより低濃度で細胞周期のG2/M期停止及びアポトーシスを誘導した。次にG2期からM期への進行に必須なCDK1及びCyclinB1のmRNA発現量をqPCR法によって検討した。その結果、Curより低濃度の化合物Aの処理によってCDK1とCyclinB1のmRNA発現量は減少した。

【結論】 本研究より、化合物AはCurより低濃度で膠芽腫の細胞周期停止及びアポトーシスを誘導することが示された。今後化合物Aによる抗腫瘍効果に関する詳細なメカニズム解析や、膠芽腫モデルマウスを用いた*in vivo*での検討を行うことで、臨床への応用が期待される。

エンドセリンA受容体と μ オピオイド受容体は二量体化受容体を形成し、新規エンドセリンA受容体拮抗薬はエンドセリンによるオピオイド鎮痛減弱作用を回復させる

○大島 佳織^{1,2}、野中 美希²、黒田 唯^{2,3}、宮野 加奈子²、高柳 広¹、上園 保仁^{2,3}

¹東京大・院医・病因・病理、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御、³順天堂大・医・麻酔科学・ペインクリニック

【背景・目的】血管収縮因子として知られるエンドセリン-1 (ET-1) は、特異的受容体であるETA受容体 (ETAR) を介して疼痛シグナルを惹起する。本研究室ではこれまで、ETAR、 μ オピオイド受容体 (MOR)、およびETARとMORの両方 (ETAR/MOR) をHEK293細胞に安定発現させた細胞を用いて、既存の拮抗薬に比しETARへの選択性が高い新規ETAR拮抗薬 (エーザイ (株) より供与) が、ET-1によって減弱化されたモルヒネによる鎮痛効果を回復させることを見出した。オピオイド製剤には、受容体に結合した際、MORの細胞内へのインターナリゼーションを引き起こすもの (フェンタニル、レミフェンタニル) および引き起こしにくいもの (モルヒネ) があり、この違いがオピオイド製剤間での鎮痛耐性の差異の要因の一つと考えられている。MORのインターナリゼーションの有無は、新規ETAR拮抗薬による鎮痛減弱作用の解除にも影響を及ぼす可能性が示唆される。そこで本研究では、新規ETAR拮抗薬によるオピオイド鎮痛作用回復効果がモルヒネ、オキシコドン、フェンタニル、ヒドロモルフォン、レミフェンタニルによって異なるかを、ETAR/MOR共発現細胞を用い比較検討した。

【方法・結果】MOR活性はcADDis cAMPアッセイにより評価した。ETAR/MOR共発現細胞において、ET-1は用いた全てのオピオイド製剤およびMOR選択的アゴニストであるDAMGOのMOR活性を減弱させた。なかでもインターナリゼーションを強く起こすフェンタニル、レミフェンタニルのMOR活性作用はET-1により完全に抑制された。一方その他のオピオイド製剤の効果はET-1により部分的に抑制された。ET-1によるこれらのMORの活性減弱作用は新規ETAR拮抗薬により全て回復された。また二量体化状態を可視化できるDuolink近接ライゲーションアッセイを用いて、ETAR/MORが二量体化受容体を形成することを確認した。

【考察】ET-1による鎮痛作用の減弱と新規ETAR拮抗薬による作用回復はETAR/MOR二量体化受容体をターゲットとして起こっていると示唆される。今後、ETAR/MOR二量体を介するオピオイド製剤の鎮痛減弱作用のメカニズム、特にインターナリゼーションを起こす薬剤と起こさない薬剤での反応の違いの検討を行う。

PDE4 阻害薬は NMDA 誘発網膜神経傷害を抑制する

○森 麻美、深澤 梨咲子、上園 崇、恒岡 弥生、坂本 謙司
帝京大・薬・医薬品作用

【背景・目的】日本の緑内障患者の大部分は正常眼圧緑内障である。しかし、現在有効な緑内障治療薬は眼圧降下薬のみである。私たちは、網膜における神経保護と循環改善による新規緑内障治療薬の探索を試みており、これまでに、細胞内 cAMP 産生を増大させる薬物が、網膜において神経保護作用及び血管拡張作用を示すことを見いだしている。また私たちは cAMP を分解する反応を触媒するホスホジエステラーゼ 4 (PDE4) を阻害する薬物が、全身循環に大きな影響を与えることなく、網膜血管を強く拡張させることを明らかにしている。しかし、PDE4 阻害薬が網膜神経保護作用を示すかどうかは明らかではない。本研究の目的は、PDE4 阻害薬が、*N*-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) による網膜神経傷害を抑制するか否かを明らかにすることである。

【方法】実験には 7-8週齢の ICR 系雄性マウスを用いた。NMDA (40 nmol/eye) により引き起こされる網膜神経節細胞傷害に対する rolipram (PDE4 阻害薬) あるいは 8-cpt-cAMP (細胞透過性 cAMP 誘導体) の影響を検討するために、NMDA あるいはその溶媒と、各被験薬物の混液を硝子体内投与した。7日後に眼球を摘出し、網膜フラットマウント標本を作製した。Alexa fluor 488 標識抗 NeuN 抗体を用いて網膜神経節細胞を標識し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。視神経乳頭に近接する 0.2 mm² の領域の網膜神経節細胞層における NeuN 陽性細胞数を測定し、細胞残存率を求めた。

【結果】NMDA により誘発された網膜神経節細胞の脱落は、rolipramにより有意に抑制された。そこで、網膜における cAMP 量の増大が NMDA 誘発網膜神経傷害に及ぼす影響について 8cpt-cAMP を用いて検討したところ、8cpt-cAMPも網膜神経傷害を抑制することが明らかになった。

【考察】以上の結果から、PDE4 阻害薬は、細胞内 cAMP 量を増大させることにより、NMDA による網膜神経傷害を抑制することが示唆された。細胞内 cAMP 量を増大させる PDE4 阻害薬は、網膜における神経保護作用と血管拡張作用を併せ持つ新規緑内障治療薬となる可能性がある。

肝類洞閉塞症候群モデルにおける肝類洞内皮細胞再生

○伊藤 義也、大高 史聖、田邊 美奈、黒田 悠、中本 修司、畑中 公、鎌田 真理子、細野 加奈子、
天野 英樹

北里大・医

【目的】

肝類洞閉塞症候群 (Hepatic sinusoidal obstruction syndrome, SOS)は造血幹細胞移植、放射線治療、大腸癌化学療法などの治療中におきる比較的まれな疾患であるが、重症化すると患者予後を不良にする。SOSは肝類洞内皮細胞(Liver sinusoidal endothelial cell, LSEC)が障害の標的となり、その結果肝障害が進展するが、その制御機構については不明な点が多い。さらに障害されたLSECの再生については解明されていない。そこで本研究では、SOSモデルを作成し、傷害を受けたLSECの再生過程とそのメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】

雄性C57/BL6マウスにモノクロタリン(monocrotaline, MCT)を600mg/kg 腹腔内単回投与してSOSモデルを作成した。経時的に肝臓を採取して遺伝子・蛋白発現を解析しLSECの傷害と再生過程を調べた。

【結果】

MCT投与によりALT値は48時間後にピークとなり、以後漸減し120時間後にはほぼ正常に回復した。組織学的には肝小葉中心域に出血壊死が肝障害ピーク時にみられ、それ以後では壊死が消褪していき修復期にはいった。LSEC傷害と再生についてLSECマーカーLYVE-1発現を解析すると、傷害期で一時的に減少したが、修復期には増加した。また修復期のLYVE-1発現は正常肝では発現しない中心静脈周囲LSECにも発現した。骨髄キメラマウスにMCTを投与し、修復期の病変部位を調べても骨髄由来細胞は傷害部位において再生されてきたLSECには存在しなかった。さらにLSEC再生因子としてAngiopoietin-2と受容体Tie2の発現が修復期で増加した。またTie2は再生LSECに発現した。

【結論】

MCT誘導肝障害において、傷害されたLSECの再生にはAngiopoietin-2/Tie2が関与する可能性が示唆された。

非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) が抗原感作に与える影響の解明

○大河原 冬彩¹、林 亜佳音¹、小林 幸司²、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、²東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室

【背景・目的】 アレルギーは、本来は無害な抗原に対する過剰な免疫応答が起きることによって生じる。非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) は、アラキドン酸を代謝するシクロオキシゲナーゼを阻害して抗炎症作用を発揮する。しかしこの投与は、アラキドン酸の余剰を引き起こし、これがロイコトリエン類など他の生理活性脂質の産生につながるため、喘息などの症状を悪化させることが報告されている。しかし、NSAIDsがアレルギー性炎症の発症や増悪に与えるその他の影響はよく分かっていない。本研究では、アレルギー反応の初期段階である抗原感作にNSAIDsの投与が与える影響について検討した。

【方法・結果】 マウスにNSAIDsであるアスピリンを2週間自由飲水で投与したのち、卵白抗原であるオボアルブミン (OVA) を週に1回、3週間腹腔内投与して感作モデルを作製した。アナフィラキシー症状の指標として3回目のOVA投与後の体温を測定すると、溶媒投与群に比べてアスピリン投与群で体温低下が有意に大きかった。また、血清中OVA特異的IgE濃度もアスピリン投与群で優位に高くなっていた。他のNSAIDsであるインドメタシンを用いて、同様の感作モデルを作製したところ、溶媒投与群に比べて、インドメタシン投与群で体温低下が大きいことが確認された。アスピリン投与開始から2週間後の組織をHE染色で観察すると、小腸、特に空腸で、絨毛が委縮した像が見られた。腸管組織中の脂質を網羅的に測定すると、アスピリン投与群でプロスタグランジンD₂ (PGD₂) の量が増加していた。リアルタイムPCRと免疫染色によって、アスピリン投与群ではPGD₂合成酵素であるH-PGDSの発現が増加していることがわかった。PGD₂の受容体であるCRTH2受容体を欠損したマウスを用いて同様のモデルを作製したところ、アスピリン投与群でみられた体温低下や、血清中OVA特異的IgE量の増加が抑制された。またCRTH2受容体の拮抗薬であるラマトロバンの投与によっても、同様の結果が得られた。

【結論】 NSAIDsの投与は腸管組織中でのPGD₂の産生を上昇させた。産生されたPGD₂はCRTH2受容体依存的なIgEの産生を増加させることで、アレルギー反応の発症を促進している可能性が示された。

Prostaglandin E₂とCaffeineの併用による肝星細胞活性化抑制機構の解明

○渡辺 雄太¹、土肥 直貴¹、山口 桃生¹、齊藤 真也^{1,2}、石川 智久¹

¹静岡県立大・院薬・薬理、²岡山理科大・獣医・創薬

肝臓が線維化すると、肝疾患は不可逆的に進行するため、肝疾患の治療において肝線維化の制御は非常に重要であると考えられている。肝線維化責任細胞である肝星細胞（HSC）の活性化制御は肝線維化治療の標的と考えられている。当研究室においてマウス初代培養細胞HSCにおいてCaffeine（CAF）がHSCの活性化を抑制すること、ProstaglandinE₂（PGE₂）とCAFを共処置するとPGE₂がCAFのHSC活性化抑制作用を増強することを報告しているが、その機序は未解明である。そこで本研究ではPGE₂とCAFの併用によるHSC活性化抑制機構の解明を目的とした。

検討には、マウス初代培養細胞HSCおよびヒトHSC株LX-2細胞を用いた。網羅的RNA発現解析によりPGE₂とCAF共処置時におけるHSCの活性化抑制機構に関与する候補遺伝子としてグルタチオンS-転移酵素α4(GSTA4)を見出した。そこで、siRNAによりGSTA4をノックダウンしたところ、TGF-β1刺激によるCOL1A1の発現を強く促進させた。さらに、TGF-β1刺激存在下でPGE₂とCAFを共処置したLX-2細胞においてGSTA4をノックダウンすることで、COL1A1の発現抑制が解除された。次にGSTA4の発現を検討したところ、TGF-β1刺激下においてCAF処置によりGSTA4の発現を増加させ、さらに、PGE₂を併用することで、GSTA4の発現が亢進した。そこでGSTA4の転写因子であるNRF2の転写活性に関してレポーターアッセイにより評価したところPGE₂およびCAF単独処置においては転写活性の増加がみられなかったのに対して、PGE₂とCAFの共処置によって転写活性の増加が見られた。また、NRF2の局在変化を検討したところ、PGE₂とCAFの共処置によってNRF2の核局在が観察された。そこでNRF2の核局在を制御するp62の発現や局在について検討したところ、CAFによりp62の発現が亢進し、凝集体が形成されたほか、CAFとPGE₂の共処置によりリン酸化体の凝集体も観察された。以上の結果より、PGE₂とCAFはNRF2の核局在および転写活性を亢進させGSTA4の発現亢進によりHSCの活性化を抑制すること、NRF2の核局在促進にはp62のリン酸化体の凝集体形成が関与することが示唆された。

Prostaglandin D₂受容体の刺激は腸管のバリア機能を増強する

○林 亜佳音¹、坂本 直観¹、中村 達朗¹、小林 幸司^{1,2}、永田 奈々恵¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学研究室、²東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室

【背景・目的】腸管は、食物を消化吸収するとともに、有害な物質の体内への侵入を防ぐバリア機能を持つ。このバリアが破たんすると、食物抗原が体内に侵入してアレルギー反応が起きたり、炎症性腸疾患を発症しやすくなる。腸管のバリア機能の維持には、タイトジャンクションで強固に結合した腸管上皮の細胞層と、その上を覆うムチン層が重要な役割を果たす。我々は、Prostaglandin(PG) D₂受容体であるDP受容体の作動薬投与が食物アレルギーや炎症性腸疾患の症状を改善することを報告してきた。本研究では、DP受容体作動薬が腸管のバリア機能に与える影響の評価とその機構解明を行った。

【方法・結果】マウスに経口投与したFITC-dextranの血中濃度を測定して、腸管透過性を評価した。DP受容体作動薬であるBW245C (100 µg/kg) を腹腔内投与すると、有意に腸管透過性が低下した。摘出した腸管のサックを作製して腸管透過性を評価したところ、BW245C (1 µM) の処置はex vivoでもFITC-dextranの透過量を抑制した。免疫染色により、DP受容体はマウスの腸管上皮細胞に発現していることが分かった。ヒト腸管上皮細胞株Caco-2を用いて経上皮電気抵抗(TER)を測定し、タイトジャンクションの形成を評価した。しかし、BW245C (1 µM) の処置はTERを変化させなかった。腸管の組織切片のムチンをアルシアンブルーにより染色して観察した結果、絶食後に溶媒を処置したマウスの腸管組織では、杯細胞内にムチンが多く蓄えられていた。一方、BW245C (100 µg/kg、腹腔内投与) の処置は、杯細胞内から腸管管腔内にムチンを放出させることが分かった。

【結論】 PGD₂受容体作動薬であるBW245Cは、マウス腸管上皮のDP受容体を刺激することで、ムチンの放出を促し、腸管バリアを増強することが示された。

急性肺障害を制御するVEGFR1シグナルの関与

○長田 真由子¹、山下 敦¹、細野 加奈子¹、鎌田 真理子¹、畑中 公¹、伊藤 義也¹、澁谷 正史²、
天野 英樹¹

¹北里大・医・薬理、²上武大・医学生理学研

【目的】 ARDS（急性呼吸窮迫症候群）は肺胞全体に炎症が波及し肺血管透過性が亢進して肺水腫をきたす重症呼吸器疾患として注目されている。VEGF（血管内皮増殖因子）は血管透過性亢進作用がある一方で、血管新生や炎症制御に関与することを私たちは報告してきた。またARDSモデルとしてLPS（lipopolysaccharide）誘導急性肺障害を作成し、VEGFが1型VEGF受容体（VEGFR1）を介して過剰な好中球集積を減少させて急性肺障害を抑制する作用があることを報告した。本研究ではVEGFR1シグナルの急性肺障害制御機構をさらに明らかにすることを目的とした。

【方法】 雄性VEGFR1チロシンキナーゼノックアウトマウス（TKKO）と野生型マウス（WT）を用いた。LPSをマウスの気管内に投与して急性肺障害を誘導し肺組織検体および気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取後、肺組織、免疫細胞、遺伝子および蛋白発現などを比較検討した。

【結果】 BALF内の免疫細胞をフローサイトメトリーで解析すると、両群ともに肺胞マクロファージ（SiglecF^{hi}/CD11b^{lo}）はLPS投与後経時的に減少した。それに代わり集積マクロファージ（SiglecF^{lo}/CD11b^{hi}）と好中球（Ly6G^{hi}/CD11b^{hi}）が両群で増加したが好中球集積がより顕著で、またTKKOの方がWTより高値を示した。LPS投与72時間後増加するサイトカインIL-1 betaは主として集積好中球が産生した。クロドロン酸をLPS投与直後にWTおよびTKKOの静脈内に投与すると、LPS投与72時間後の肺胞マクロファージ、集積マクロファージ、好中球および組織学的肺障害スコアが両群で減少した。またTKKOに比較してWTでは集積CD11c+マクロファージが増加した。肺組織内の炎症性サイトカインやケモカインの発現はWTよりTKKOで増加した。

【結論】 LPS誘導急性肺障害は肺胞マクロファージおよび集積マクロファージが好中球を集積させ好中球由来IL-1beta産生がもたらす可能性が示唆された。またVEGFR1シグナルを介した集積CD11c+マクロファージの抗炎症作用が肺障害を抑制する可能性が示唆された。

Aquaporin-5による肺上皮細胞のアポトーシス抑制とその病態生理学的意義

○石井 慎也、内山 雄太、村上一仁、磯濱 洋一郎
東京理科大・薬・応用薬理学

【背景・目的】

水チャネルとして知られるaquaporin (AQP)は、細胞膜の水透過を促進し、生体内の水分代謝に重要な役割を果たす。また、近年ではAQP類による細胞増殖の亢進や炎症応答の更新など新たな機能も見出され、種々の疾患の病態形成における役割などが注目されている。AQP類の中で、AQP5は特に肺胞および気道上皮に存在するアイソフォームであり、このAQP5の発現は喘息や急性呼吸器窮迫症候群 (ARDS) などの炎症状態で著明に減少することが知られている。また、これらの疾患時には、肺上皮細胞のアポトーシスが生じ、これが、病態の進行と密接な関係にあるとの報告が散見される。そこで本研究では、このAQP5の新たな機能を調べることを目的に、特にAQP5の有無が細胞の脆弱性すなわちアポトーシスに影響するか否かを調べた。

【結果・考察】

まず、内因性のAQP5をもつマウス肺胞上皮細胞株MLE-12細胞をTNF- α (10 ng/mL) およびFasリガンド (FasL, 250 ng/mL) で共処理して細胞死を誘発した。本実験で、コントロール細胞の16時間後の生存率は約75%であったが、siRNAでAQP5発現を抑制すると、同処理後の生存率が約30%と著明に低下した。これとよく一致して、siAQP5導入細胞では、切断型caspase-3の発現がコントロール細胞に比べ著明に増加し、AQP5によりアポトーシスが抑制されると考えられた。一方、ARDS病態の特徴として生じる肺水腫はFas依存的な肺上皮細胞のアポトーシスによって悪化するという報告 (Kitamura Y et al., *Am J Respir Crit care Med*, 2001) がなされている。そこで、本病態におけるAQP5の発現低下が肺水腫病態の増悪化につながるのか否かを明らかにするため、肺上皮特異的にAQP5を過剰発現する遺伝子改変 (AQP5-Tg) マウスの腹腔内にLPSを投与し、ARDSを誘発した。その結果、AQP5-Tgマウスでは、肺乾湿重量比で評価した肺水腫および生存率が野生型マウスと比較して著明に改善された。以上の結果より、AQP5は*in vitro*実験系にてアポトーシスを抑制するとともに、*in vivo*実験系でもAQP5の発現低下が肺上皮細胞のアポトーシスを亢進し、肺水腫の重篤化に関与することが示唆された。

5,6-DiHETEは肥満細胞の脱顆粒を抑制して、アレルギー性結膜炎の症状を抑制する

○竹ノ内 晋也¹、永田 奈々恵¹、鈴木 十萌歌¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学、²東京大・院農学生命科学・獣医薬理学、³東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学

【目的】 アレルギー性結膜炎は、花粉などの抗原によって引き起こされる結膜のアレルギー反応であり、瞼の腫れや発赤、流涙、掻痒感などの症状を伴う。この反応は、結膜に存在する肥満細胞が抗原を認識してHistamineなどの炎症性物質を放出し、これらが血管や神経を刺激することで生じる。先行研究で我々は ω -3脂肪酸EPAの代謝産物である5,6-dihydroxy-8Z,11Z,14Z,17Z-eicosatetraenoic acid (5,6-DiHETE) が、マウスの耳のHistamine誘発性炎症を抑制することを報告した。本研究では、マウスのアレルギー性結膜炎モデルに対する5,6-DiHETEの治療効果を検討した。

【方法・結果】 雄性Balb/cマウスにブタクサ花粉 (RW) を0および5日目に腹腔内投与し、10-14日目に2 mg/eyeのRWを毎日点眼することで、アレルギー性結膜炎を惹起した。14日目に瞼の腫れや発赤、流涙を観察し、病態スコアをつけた。またシルマー試験紙により涙量を測定した。結膜炎モデルでは、RW点眼30分後までに病態スコアが上昇し、涙量が増加した。病理組織学的解析により、14日目の結膜において肥満細胞の脱顆粒や好酸球の浸潤がみられた。RW点眼の直前に300 μ g/kgの5,6-DiHETEを腹腔内投与すると、病態スコアの上昇、涙量増加、肥満細胞の脱顆粒率・好酸球数の増加が有意に抑制された。

実応用を想定して、点眼による5,6-DiHETEの効果を検討した。8 μ g/eyeのHistamine点眼の45分および15分前に1 μ g/eyeの5,6-DiHETEを点眼すると、上記の症状が抑制された。

次に、5,6-DiHETEがアレルギー性結膜炎を抑制する機序を解明するために、マウス骨髄由来肥満細胞 (BMHC) の脱顆粒に対する5,6-DiHETEの作用をin vitroで評価した。BMHCに抗体と抗原を処置すると、培養上清中に β -hexosaminidaseが放出され、脱顆粒することが確認された。5,6-DiHETE 1 μ Mを抗原処置の15分前に添加すると、 β -hexosaminidaseの放出量が抑制された。更にHistamineが起こす血管透過性の上昇に5,6-DiHETEが与える影響を評価した。マウスに4 μ g/eyeのHistamineを点眼すると、15分後には涙量が増加し、静脈内に投与した色素の結膜組織への漏出量が増加した。Histamine点眼の15分前に300 μ g/kgの5,6-DiHETEを腹腔内投与すると、これらの症状が抑制された。

【結論】 以上より、5,6-DiHETEは肥満細胞の脱顆粒、好酸球の浸潤、血管透過性の亢進を抑制し、マウスのアレルギー性結膜炎を抑制することが明らかとなった。

転移性脳腫瘍の脳内免疫環境とアストロサイトの関与

○佐藤 圭汰朗¹、加藤 大浩¹、菊池 望恵¹、大川 柊弥¹、後藤 杏子¹、松本 千佳²、田中 浩揮²、秋田 英万²、樋坂 章博¹、佐藤 洋美¹

¹千葉大・院薬・臨床薬理学研究室、²東北大・院薬・薬物送達学

転移性脳腫瘍(BrM)の脳内免疫環境は未だ不明であるが、近年、メラノーマ、乳がんおよび肺癌由来のBrM患者の腫瘍部にて末梢由来の免疫細胞の存在量が上昇していることが報告された。一方、BrMはアストロサイトとGap結合を形成し、この結合を介してアストロサイトへ送達される2'3'-cyclic AMP-GMP(cGAMP)がサイトカインの産生を促進し、がん細胞の成長を促進するという報告もある。我々は以前にcGAMPを導入したアストロサイトにおいて免疫細胞を動員するCCL2, CCL5, CCL7およびCXCL1等のケモカインの有意な発現上昇を確認した。本研究ではBrM誘導マウスモデルを用いて脳内免疫環境を確認し、免疫細胞の構成および腫瘍周辺アストロサイトの関与を明らかにすることを目的とした。

マウスメラノーマB16 4A5をマウスの頸動脈に注入し、BrMを誘導した。約3週間後に脳を摘出し、フローサイトメトリーおよび免疫染色によりCD45陽性骨髄性免疫細胞のうちミクログリア、マクロファージおよび好中球の構成比と局在を確認した。次に、脂質ナノ粒子である環境応答性脂質様物質(ssPalm)を活用してcGAMPを直接細胞内へ導入したアストロサイトの培養上清をケモアトラクタントとして用い、好中球へ分化させたHL-60細胞の遊走能に対する影響を検討した。BrMモデルマウスの脳においてマクロファージと好中球の比率が増加した。特に好中球においてはその増加が顕著であった。また、腫瘍部におけるミクログリアの局在が観察された。一方、HL-60の遊走能はcGAMPを導入したアストロサイトの上清によって促進する傾向が観測された。以上のことから、今回の結果はBrMの脳における末梢由来の免疫細胞の浸潤の可能性をより強固なものにするるとともに以前の報告で割合が減っていたミクログリアの腫瘍微小環境への関与も示唆するものとなった。腫瘍部に局在するミクログリアがどのような性質であるか今後検討の余地がある。さらに腫瘍周辺アストロサイトが末梢由来の免疫細胞の浸潤を誘導する一端となる可能性が新たに示された。

抗tetranor-PGDM抗体の変改とヒトの尿中tetranor-PGDM濃度を測定する酵素免疫測定法の開発

○藤城 正樹¹、永田 奈々恵¹、小川 進也¹、石井 健¹、村田 幸久^{1,2,3}

¹東京大・院農学生命科学・放射線動物科学教室、²東京大・院農学生命科学・食と動物のシステム科学研究室、³東京大・院農学生命科学・獣医薬理学研究室

【背景・目的】

我々はこれまでに、Prostaglandin D₂の最終代謝産物であるtetranor-PGDMの尿中濃度が、食物アレルギー症状の重篤度を反映する指標であることを報告してきた。また、この臨床検査への応用を目的に、抗tetranor-PGDM抗体を作製し、これを用いた簡便な酵素免疫測定法(EIA)の開発を進めてきた。しかし、ヒトの尿中にはこの濃度測定に影響する夾雑物が多く、EIAによる測定値が、実際の尿中のtetranor-PGDM濃度より高く算出されることが課題であった。本研究では、既存抗体のアミノ酸を変改することで特異性を上げ、ヒト尿中のtetranor-PGDM濃度をより正確に測定できるEIAの開発を目的とした。

【方法・結果】

既存抗体の配列情報を用いたホモロジーモデリングにより抗tetranor-PGDM抗体の立体構造を予測したところ、疎水性アミノ酸が3次構造上に密集して存在する疎水性パッチが5つ存在していた。疎水性パッチは非特異的結合の原因となり得るため、これを構成するアミノ酸のうち、溶媒露出面積が大きく変改候補となるアミノ酸を12ヵ所選択して、親水性の高いセリンやアスパラギン酸に変改することとした。実際にはPCRとIn-Fusionクローニング法により点変異プラスミドを作製し、HEK293T細胞にトランスフェクションを行って計22種類の改変抗体を得た。食物アレルギー患者の尿をタンパク質除去およびOasis PRiME HLBカラムを用いた固相抽出処理を行った尿標本を準備し、改変抗体を用いた競合EIAによりPGDM濃度を測定した。その結果、質量分析法による測定値に近づいた改変抗体が6種類得られた。さらに、それら複数のアミノ酸変改を組み合わせた改変抗体を用いると、さらなる改善が確認された。

【結論】

本研究では、立体構造モデリングおよびパッチ解析をもとに抗tetranor-PGDM抗体を変改し、ヒト尿中のtetranor-PGDM濃度をより正確に測定することができる競合EIAを開発できた。

SGLT2阻害剤による心保護作用のメカニズム解明のための脂肪組織の抗炎症及び代謝シフトに関する検討

○豊島 拓斗、小金 正空、樋坂 章博、佐藤 洋美
千葉大・院薬・臨床薬理学研究室

Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor (SGLT2i)は近位尿細管からの糖の再吸収を担うSGLT2を阻害することによって血糖値を下げる糖尿病治療薬であり、近年では心血管イベントのリスクを下げる事が明らかとなっている。またSGLT2iにはケトン体代謝シフトなどの代謝調節作用も報告されている。本研究ではSGLT2iが脂肪組織の炎症抑制を介在して心血管イベントのリスクを低減する可能性を検討するため、TNF-alpha, LPS, INF- γ を用いて炎症を引き起こした3T3-L1由来白色脂肪細胞における炎症性因子 (IL-6、iNOS、MCP-1)、抗炎症性因子 (adiponectin)、及びメタボロームに対するDapagliflozin (Dapa) 及びEmpagliflozin (Empa) の影響を検討した。また、脂肪組織に浸潤するマクロファージを想定し、THP-1由来マクロファージを用いて炎症性因子 (TNF-alpha, IL-6)、抗炎症性因子 (CD163, CD206, C1QA) に対するDapa及びEmpaの影響を合わせて検討した。

炎症を惹起した白色脂肪細胞において30 μ MのDapaはiNOSの有意な減少、adiponectinの有意な上昇を引き起こし、10 μ MのEmpaはadiponectinの有意な上昇を引き起こした。更に、炎症条件下の白色脂肪細胞においてDapaによるメタボロームの変動が確認され、濃度依存的なArginineの減少、Methionineの上昇、GABAの有意な上昇が確認された。LPSによって炎症惹起したマクロファージ(M1型)においては、10 μ MのEmpaによって炎症性因子のTNF-alphaとIL-6の有意な減少が確認され、IL-10によって刺激したマクロファージ(M2c型)においてDapaおよびEmpaはM2c型マーカーであるCD163, CD206をさらに上昇させた。

これらの結果から、SGLT2iは脂肪組織に対して抗炎症効果を発揮すること可能性が示唆された。メタボローム変動は炎症環境の変化を反映していると考えられ、今後、抗炎症作用との関係を追究する。

遊離脂肪酸の質的違いが膵臓β細胞のミトコンドリア機能および酸化ストレス耐性に与える影響

○鈴木 真理子¹、井上 愛珠実²、遠藤 薫子²、永田 莉子²、田中 直子²

¹大妻女子大院人間文化 健康栄養、²大妻女子大・家政・食物

【目的】

血中脂肪酸、特に飽和脂肪酸濃度の上昇が膵臓β細胞の小胞体ストレスを引き起こし、インスリン分泌低下や細胞死を誘導して糖尿病の増悪を促すことが報告されている。近年、鎖長や二重結合の有無などを「脂肪酸の質」と捉え、その違いがもたらす影響に注目が集まっている。筆者らは、これまで飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸が膵臓β細胞に与える影響の違いを、インスリン分泌機構の中で重要な小胞体とミトコンドリアに注目して調べてきた。本研究では、オレイン酸(18:1, OA)がミトコンドリアのグルコース感受性、活性酸素産生量および細胞の酸化ストレス耐性に与える影響について、パルミチン酸(16:0, PA)との比較を行った。さらに、飽和脂肪酸で鎖長が少し短いラウリン酸(12:0, LA)がミトコンドリア機能に与える影響も調べた。

【方法】

ラット膵臓β細胞由来のINS-1細胞を用い、PA、OAまたはLAを200 μM で添加して6~7日間培養し、低グルコース/脂肪酸(-)培地で一晚処理後実験を行った。ミトコンドリア活性は、グルコース刺激後のミトコンドリア膜電位、ATP濃度の変化を、それぞれTMRE、蛍光タンパク質GO-ATeam(京都大・今村博臣准教授より供与)を用いて評価し、細胞内活性酸素量はCellROXを用いて評価した。H₂O₂添加後のCaspase活性はCaspase Glo 3/7 Assay System で、アポトーシス誘導はFITC-Annexin-Vを用いて調べ、また、酸化ストレス、細胞死関連タンパク質のmRNA発現量をRealtime PCRで測定した。

【結果および考察】

ミトコンドリア膜電位およびATP濃度の経時変化から、OA細胞でミトコンドリア電子伝達系が活性化していることが示唆された。このような現象はPA細胞では観察されなかった。一方、細胞内活性酸素産生量は、OA、PA細胞ともに高かった。H₂O₂添加後のCaspase3活性および初期アポトーシスの観察から、PA、OA細胞の順で酸化ストレス耐性が低下していることが示唆された。高PA環境は小胞体ストレスを介してアポトーシスを惹起するが、高OA環境はミトコンドリアを活性化し、細胞内活性酸素の増加を介して酸化ストレス耐性を下げる可能性があることが示唆された。LA細胞ではミトコンドリア膜電位変化がOA細胞と近く、炭化水素鎖の長さもミトコンドリアへの影響を左右する要因の1つであると考えられた。

脂肪細胞の分化および分解に対するCordycepin含有琉球夏草抽出エキスの効果

○岡 幸大、草間 和哉、藤井 千咲、吉田 佳乃子、安曇 麻奈、吉江 幹浩、田村 和広
東京薬科大・薬・内分泌薬理学

【背景・目的】糖尿病をはじめとする生活習慣病の発症には肥満、特に内臓脂肪の蓄積が深く関与している。肥満は脂肪細胞の体積の増加や、脂肪細胞数の増加といった二つの異なるメカニズムによって引き起こされており、この過程を抑制する食品成分の研究が広く行われている。以前、沖縄産エリ蚕の蛹を宿主としたサナギタケである琉球夏草（冬虫夏草の一種）の子実体抽出エキス（CM）が、前立腺がん細胞の増殖を抑制することを報告した。また、CMの主要活性成分がCordycepinであることを同定し、増殖抑制作用の一部がアデノシンA₁受容体を介することを示した。そこで今回、プリン作動性受容体を高度に発現する脂肪組織に対するCMの効果を検証するため、脂肪細胞分化マウス及び胎児線維芽細胞3T3-L1を用いたII型糖尿病動物モデルであるTSODマウスを用いて、成熟脂肪細胞への分化と脂肪の分解に対するCM及びCordycepinの効果について検討した

【方法・結果】培養3T3-L1細胞において、CMまたはCordycepinの処置は、オイルレッドO染色による細胞内脂肪滴量を抑制した。CMとCordycepin処置は、PPAR γ 、C/EBP β を含む複数の脂肪細胞分化マーカー発現を阻害した。また、CM、Cordycepinは、脂肪分解を担うホルモン感受性リパーゼ(HSL)のリン酸化レベルを増加させ、脂肪分解の指標であるメデイウム中のグリセロール量も増加させた。TSODマウスにおいては、1か月間CM及びCordycepin含有食を与えたところ、血中中間比重及び超低比重リポ蛋白質濃度(IDL/VLDL)が低下した。一方、インスリン感受性に関わるPPAR γ とC/EBP β の発現は増加した。また、対照群マウスにおいては、PPAR γ とC/EBP β の発現を低下させ、脂肪細胞の分化を抑制した。

【考察・結論】Cordycepinを含むCMは、脂肪細胞への分化を抑制すると共に、脂肪の分解を促進することを明らかにした。さらに、インスリン感受性を改善する可能性も示唆した。このようにCM及びCordycepinは体脂肪を低減することが推察され、肥満および肥満関連疾患の予防に有益な化合物になる可能性が考えられた。

シークワーサー果皮抽出物の経口摂取はマウス膵 β 細胞量保持による抗糖尿病効果を示す

○梶 萌、金子 雪子、Ihim Stella、狩野 蘭、石川 智久
静岡県立大・院薬・薬理

【目的】2型糖尿病病態下では持続的な高血糖状態によりインスリン分泌の低下や膵 β 細胞死が生じる。すなわち、インスリン分泌機能不全や膵 β 細胞量の減少を抑止することは2型糖尿病の治療の鍵となると考えられる。Nobiletin (NOB)は柑橘類果皮含有ポリメトキシフラボノイドで、抗肥満効果やインスリン抵抗性の改善といった抗糖尿病効果が報告されている。一方、我々は膵 β 細胞株においてNOBがインスリン分泌促進作用および小胞体ストレス誘発アポトーシス抑制作用を有することを明らかにしている。さらに、2型糖尿病モデルマウスにおいて浸透圧ポンプ皮下移植によるNOB持続投与の結果、 β 細胞保持効果による抗糖尿病効果を確認している。そこで本研究では、2型糖尿病モデルマウスを用い、NOBを多量に含むシークワーサー果皮抽出物の飲水投与による膵 β 細胞保持による抗糖尿病効果について検討した。

【方法】2型糖尿病モデルマウス *db/db* (雄性、5週齢) にシークワーサー果皮抽出物をNOB含有量が10あるいは100mg/kg/dayとなるようにMediGel® Sucraloseに混ぜ、飲水として4週間投与した。体重、血糖値、摂水量測定その他、投与開始4週目に経口糖負荷試験 (OGTT)、膵臓の単離及び下大静脈からの全採血を行った。単離した膵臓は薄切切片にして免疫染色によりインスリン陽性面積の算出もしくはホモジナイズし膵臓インスリン含量の測定に使用した。さらに血清インスリン値をELISAにて測定した。

【結果・考察】シークワーサー果皮抽出物の4週間飲水投与により、vehicle群と比較して体重の推移に変化はなかったが、随時血糖値は抽出物高用量投与群において低値を推移した。OGTTを行った結果、抽出物投与群において耐糖能の改善が認められた。抽出物投与による血清インスリン値、膵臓インスリン含量の有意な増加は認められなかったが、膵臓薄切切片を用いた免疫染色による β 細胞量の画像解析を行った結果、抽出物高用量投与群では *db/db* における β 細胞の脱落が有意に抑制された。

以上の結果より、NOBを多量に含むシークワーサー果皮抽出物の飲水投与により、*db/db* における耐糖能改善効果、膵 β 細胞の減少の抑制が認められ、膵 β 細胞機能が改善されていることが示唆された。

ケルセチンはミトコンドリア機能を介して胎盤栄養膜細胞の融合を促進する

○篠原 豪¹、吉田 佳乃子¹、草間 和哉¹、小島 淳哉²、安曇 麻奈¹、吉江 幹浩¹、小野 政徳²、西洋孝²、田村 和広¹

¹東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室、²東京医科大・医・産科婦人科学教室

【背景・目的】 妊娠の維持に不可欠な胎盤の主構成細胞である合胞体栄養膜細胞は、ガス交換や栄養供給、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）などのホルモン産生を担っている。妊娠高血圧症候群患者の体内では酸化ストレスが発生しており、その酸化ストレスが栄養膜細胞の融合を阻害することが報告されている。酸化ストレスの原因であるミトコンドリア活性酸素種（ROS）はミトコンドリアの電子伝達系から産生される。そこで本研究では食品由来ポリフェノールであるケルセチンに着目し、細胞融合におけるミトコンドリア機能に及ぼすケルセチンの影響について検討した。

【方法】 培養栄養膜細胞株BeWoに融合刺激薬（ジブチリルcAMP）とケルセチンを共処置し、細胞融合（合胞体化）及びミトコンドリア機能、酸化ストレスを各マーカー因子の発現（qRT-PCR, ウェスタンブロット）にて評価した。またROS産生をフローサイトメトリーにより解析した。さらに、オートファジーを介したミトコンドリアの選択的分解機構であるマイトファジーを蛍光染色により検出した。

【結果】 ケルセチン処置は、細胞融合マーカー（Syncytin2、hCG β ）を有意に上昇させた。ELISAを用いて細胞内cAMPを測定したがケルセチン処置による変化はなかった。マイトファジーマーカー（PINK1、SQSTM1）とミトコンドリア融合マーカー（MFN1/2）はケルセチン処置により上昇した。また、融合刺激によりROS産生が上昇し、ケルセチンの共処置により抑制された。酸化ストレスマーカー（NRF2、HO-1、KEAP1）の発現は細胞融合により上昇し、ケルセチン処置により抑制された。抗老化マーカー（SIRT1/3/6）の発現はケルセチンの処置により上昇した。

【結論】 ケルセチンは細胞融合過程で発生するROSを抑制することで、ミトコンドリア機能を調節し、合胞体栄養膜細胞への細胞融合を促進することを明らかにした。このことから、ミトコンドリア機能を調節する化合物は正常な胎盤形成に益することが示唆された。

マウスにおけるポドサイトとボウマン嚢上皮細胞の加齢性変化と性差の検討

○鎌田 真理子¹、細野 加奈子¹、畑中 公¹、伊藤 義也¹、Stuart J. Shankland²、天野 英樹¹

¹北里大・医・薬理学、²University of Washington・Department of Nephrology

世界中で進む高齢化は慢性腎臓病(CKD)の有病率だけでなく、透析患者数も増加させている。従って加齢腎の病態解明は適切な医療を提供する為にも重要である。CKDの有病率は女性の方が多いが、新規透析導入患者は男性の割合が多く、男性の方が腎臓病の進行が早い機序は明らかではない。加齢により葉間動脈壁肥厚と内腔狭小化、ポドサイトの減少、硬化糸球体の増加の他、ボウマン嚢壁側上皮細胞(PEC)の密度低下や線維性肥厚、EMT(上皮間葉転換)マーカーやPericyte マーカーの増加などが報告されている。しかしながら、糸球体機能に重要な役割を果たすポドサイトとPECの加齢性変化と性差については明らかではない。そこで、4,12,18,24,27ヶ月齢(mo)の雌雄マウス(ヒトでは26,58,64,70,79歳に相当)を用いて、糸球体を組織学的に検討した。ポドサイト密度は雌雄共に4moから12 moにかけて急激に減少した。雄ではこれ以降は変化しなかったが、雌では24 moまでさらに緩やかに減少した。性差をみると、4 moでは雌が高く、24 moでは雄が高くなっていた。糸球体面積は、雄では4moから12moにかけて増加し、雌では4moから24moまで増加した。雌雄の比較では18moのみ雌の糸球体面積が小さかった。Alb尿は、雄では有意な増加はなく、雌では18moと27moで有意に増加した。性差をみると経過中に差はなかった。加齢に伴いPECではCD44が発現するため、糸球体におけるCD44陽性PECをカウントした。雄では皮質外層outer cortical (OC)で12 mo以降から緩やかに増加し、傍髄質juxta-medullary (JM)で4 mo以降から急速に増加した。雌では、OCで24mo以降から、JMでは18mo以降から増加した。EMTマーカー α -SMA陽性PECは、雄ではOC、JM共4moから27 moまで高値を維持し、雌ではOCで12 mo以降から、JMでは4 mo以降から増加した。Nephrosclerosisの出現は、雄では24m以降、雌では27m以降であり、雄の方が早期に出現した。以上の結果から、老化に伴う腎障害は雄で早期に出現することが示唆され、雌では過剰濾過に伴う変化が高齢まで持続する事が示唆された。

ハナショウガ成分ゼルンボンは培養細胞及び動物モデルで腎臓線維化を抑制する

○鳴田 竜也¹、刀坂 泰史^{1,2,3}、浜辺 俊秀^{1,2,3}、砂川 陽一^{1,2,3}、長谷川 浩二^{1,2}、森本 達也^{1,2,3}

¹静岡県立大院・薬学研究科・分子病態学講座、²国立病院機構京都医療センター・展開医療研究部、³静岡県立総合病院

[目的] 組織線維化は過剰な細胞外マトリックス成分の蓄積と定義され、器官の機能不全と密接に関連していることが知られている。慢性腎臓病は様々な病態が複雑に絡み合い発症するが、共通の病理学的特徴として線維化が起こることから、線維化を抑制することによる新たな慢性腎臓病治療が期待されている。当研究室ではハナショウガの主成分のゼルンボン (Zer) が心臓線維芽細胞に対して抗線維化作用を示し、圧負荷心不全を改善することを見出した (Phytomedicine. 2021 Nov;92:153744)。すなわち他臓器においてもZerの線維化抑制作用が期待できる。そこで本研究の目的は、腎臓線維化に対するZerの薬理効果を明らかにすることである。

[方法・結果] 腎臓線維化に対する効果を検討するため、腎臓線維芽細胞株NRK-49fをZerで前処理し、線維化を誘導するTGF- β にて刺激を行い、24時間後の線維化マーカーのmRNAとタンパク質の発現量をRT-qPCR法及びウエスタンブロット (WB) 法にて検討した。線維化マーカーのmRNA及びタンパク質レベルは、TGF- β により有意に上昇したが、Zer処理により抑制された。続いて、8-10週齢のC57BL/6j雄性マウスに腎臓線維化の病理的特徴を再現する片側尿管閉塞 (UUO) モデル及びコントロールとして偽手術 (Sham) を施した。UUOマウスには、Zer (30, 100 mg/kg/day) 及び溶媒 (Vehicle) を手術日翌日から連日経口投与した。手術7日後にサクリファイスを行い、組織学的解析および線維化関連遺伝子のmRNA発現量をRT-qPCR法にて検討した。その結果、線維化関連遺伝子の発現量はSham群に比べて、Vehicle群では有意に増加したが、Zer投与によってこの発現増加は有意に抑制された。腎臓組織切片のシリウスレッド染色を行い、線維化面積を測定した結果、Vehicle群はSham群に比べ線維化が有意に亢進した。この腎臓線維化はZer投与によって有意に抑制された。

[考察] 本研究より、ZerはTGF- β 刺激による線維化反応およびUUOによる腎臓線維化を抑制することが示唆された。Zerは線維化を伴う慢性腎臓病予防に応用できる可能性が考えられる。

胎盤細胞融合におけるPPAR γ とcAMPシグナル介在性内在性レトロウイルス遺伝子の発現制御

○小田切 歩絵美¹、安曇 麻奈¹、吉江 幹浩¹、田村 和広¹、今川 和彦²、草間 和哉¹

¹東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室、²東海大・農・総合農学研究所

【背景・目的】胎盤は哺乳類のみが持つ器官であり、胎児と母体間の栄養・ガスの交換や免疫的バリア機能を果たす。これらの役割は胚盤胞の外側を構成しているトロホブラスト細胞、特に融合した多核のトロホブラスト細胞が担っている。胎盤形成は胚着床後に形成されるが、妊娠早期に約半数の胚が死滅する。この原因の一つとして着床不全や胎盤の形成異常が考えられる。近年、内在性レトロウイルス(ERVs)遺伝子が胎盤形成に必須であることが報告されており、ウシトロホブラスト細胞においてもERVsであるRUM1とBERVK1発現が胎盤形成時に増加する。ERVsはトロホブラスト細胞の融合に不可欠であるが、その発現調節機構は不明である。これまで、融合トロホブラスト細胞においてPPARGが発現上昇していることが報告されているが、ERVsとの関係は不明である。本研究では、ウシERVsの発現調節における転写因子PPAR γ と情報伝達物質cAMPの役割について検証した。

【方法・結果】妊娠17、20、22、35、45、190日(着床=19.5日)の胚及び絨毛膜組織における遺伝子発現及び局在を確認した。さらに、ウシトロホブラスト細胞株にPPAR γ またはcAMP活性化薬を処置し、RNA-seqによる全遺伝子発現解析からウシERVsの発現制御機構を解析した。RUM1、BERVK1は着床直後の妊娠20日から分化・融合した二核細胞にて発現が見られ、胎盤形成初期の35日から劇的に増加した。PPAR γ またはcAMP活性化薬処置は、RUM1及びBERVK1を濃度、時間依存的に増加させた。この時の全遺伝子発現をRNA-seqにより解析したところ、細胞内MAPKシグナル関連因子群が変化していた。そこで細胞内シグナルについてタンパク質発現を検証したところ、PPAR γ とcAMP共にp38MAPKのリン酸化レベルを上昇させ、ERK1/2、AKTを減少させた。そこで、各阻害薬を処置したところ、p38MAPK阻害薬は、RUM1およびBERVK1発現を減少させ、AKT阻害薬は増加させた。

【結論】胚着床を起因としたトロホブラスト細胞におけるcAMP上昇とPPAR γ 活性化はp38MAPKおよびAKTを介してRUM1、BERVK1発現を誘導し、細胞融合を促進することで胎盤形成を調節していることが示唆された。

トロンボキサンの子宮内膜症における役割解明

○古江 明子^{1,2}、服部 響子²、本田 雅子²、関口 和企²、細野 加奈子¹、鎌田 真理子¹、畑中 公¹、伊藤 義也¹、加藤 一喜²、天野 英樹¹

¹北里大・院医療・分子薬理学、²北里大・医・産婦人科学

【目的】

子宮内膜症は生殖年齢女性の5~10%が罹患し不妊症、月経困難症などを合併する慢性疾患である。私たちは、内膜組織が異所性に発育・増殖する点に着目し、血管新生やリンパ管新生が子宮内膜症発育に関与することを報告してきた。さらにシクロオキシゲナーゼ (COX) 由来のプロスタグランジンが内膜症病変内の血管新生を促進することを見いだした。一方、同じCOX由来のトロンボキサンA₂(TXA₂)の関与は不明である。そこで、TXA₂受容体(TP受容体)シグナルの子宮内膜症における役割解明を本研究の目的とした。

【方法】

雌性9週令C57BL/6マウス (野生型,WT)とTP受容体ノックアウトマウス(KO)を用いた。ドナー(WTまたはKO)マウスの子宮内膜移植片を、宿主(WTまたはKO)の腹膜に移植するマウス異所性子宮内膜症モデルを作成した(WT→WT,KO→KO)。移植後14日目に移植片を摘出し、子宮内膜移植片面積、血管新生ならびにリンパ管新生およびその関連因子について、免疫染色やPCRなどで比較検討した。また、培養骨髄由来マクロファージをTXA₂受容体作動薬であるU46619で刺激した反応についてPCRで検討した。

【結果】

移植後14日目の、移植片面積・移植片内の血管密度・リンパ管密度および、血管内皮マーカー(*Cd31*)やリンパ管内皮マーカー(*Lyve1, Prox1, Vegfr3*)および血管新生因子(*Vegfa*)やリンパ管新生因子(*Vegfc, Vegfd*)の発現は、WT→WTに比べKO→KOで増加した。二重免疫染色にてTPは移植片のマクロファージ(F4/80陽性細胞)に共発現したが、血管内皮(CD31)やリンパ管内皮(LYVE-1)には共発現しなかった。また、移植片のマクロファージは血管新生因子(VEGFA)・リンパ管新生因子(VEGFC・VEGFD)を共発現した。移植片へのマクロファージの集積および移植片のM2マクロファージ関連遺伝子(*Il10*)の発現がKO→KOで増加した。LPS処置下の培養骨髄由来マクロファージをU46619刺激すると、血管およびリンパ管新生因子やM2マクロファージ関連遺伝子の発現はWT由来マクロファージで減少したが、KO由来マクロファージでは減少しなかった。

【結論】

マウス異所性子宮内膜症モデルにおいて、TP受容体シグナルはM2マクロファージからの血管およびリンパ管新生因子産生を抑制して血管・リンパ管新生を減少させることで、子宮内膜症進展に関与することが示唆された。

子宮内膜間質細胞におけるSERPINA 1 発現低下時のPGE2とトロンビンによる炎症反応の増強

○沖田 萌亜奈、草間 和哉、安曇 麻奈、吉江 幹浩、田村 和広
東京薬科大・薬・内分泌薬理学教室

【背景・目的】子宮内膜症は、内膜組織が異所性に存在して機能する疾患であり、罹患率が高く、腹部疼痛や不妊症を招く。病変部位では炎症反応や線維化が誘起されている。我々は以前、子宮内膜症動物モデルの病変において急性期タンパク質として知られているセリンプロテアーゼ阻害因子SERPINA 1 の発現が低下していること、また、内膜症病変の特徴である炎症反応を逆流性月経血中に含有されるプロスタグランジンE2 (PGE2) とトロンビンが促進することを報告している。しかしながら、SERPINA 1 の発現低下とPGE2、トロンビンの子宮内膜症病態に対する作用の詳細な機構は不明である。そこで、この機構についてヒト子宮内膜間質細胞を用いて網羅的トランスクリプトーム解析により精査した。

【方法・結果】ヒト子宮内膜間質細胞にsiRNAを導入しSERPINA 1 発現を抑制し、PGE2とトロンビンを処置した。その後、全転写産物をRNAシーケンスにて解析した。次に、この解析により有意に変化した因子をqPCRおよびウエスタンブロットにより検証した。その結果、SERPINA 1 発現抑制およびPGE2とトロンビン処置により31因子が減少し、94因子が上昇した。さらに、SERPINA 1 発現抑制条件下においてのみPGE2とトロンビン処置で変化する因子群を過去のトランスクリプトームデータとの比較解析により49因子まで絞り込んだ。この因子群をパスウェイ解析およびGO解析にて解析したところ、DNAに結合する7つの因子 (SNAI1、HDAC5、PBX1、SOX4、EPAS1、LHX9、MAFK) が有意に増加した。これらの因子の発現は、培養細胞のSERPINA 1 発現抑制によっても上昇することをqPCRで確認した。

【考察・結論】間質細胞においてSERPINA1発現レベルの低下は炎症性因子の発現を上昇させ、PGE2とトロンビン処置はさらに促進する。これらの発現は、同定したDNA結合性の7因子により制御されていると考えられる。子宮内膜間質細胞のSERPINA1発現低下条件下において、逆流性月経血中に含有されるPGE2とトロンビンは、子宮内膜症の病巣でみられる炎症を、新たに同定した因子群を介してさらに増強することが推察された。

立体的かつ構造改変が容易な新規 δ 、 κ 受容体作動薬の探索～CellKeyアッセイシステムを用いて～

○渥美 菜穂^{1,2}、宮野 加奈子²、唐木 文霞¹、前山 千晶^{1,2}、横田 純礼^{1,2}、小村 京子^{1,2}、曾 友佳^{1,2}、野中 美希²、藤井 秀明¹、上園 保仁²

¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座

【目的】 がん患者の70%は痛みを経験し、がん性疼痛の80%は、適切な鎮痛薬の使用によりコントロールできるとされる。モルヒネに代表される医療用麻薬は、オピオイド受容体(μ 、 δ 、 κ)のうち主に μ 受容体(μ OR)を介して強い鎮痛効果を発揮し、これらは広く臨床で用いられている。しかしこれらの薬剤は、依存をはじめとする深刻な副作用が認められているため、 μ OR以外の δ OR及び κ ORを活性化する新規鎮痛薬の開発が注目されている。当研究室では、 δ OR及び κ ORの新規アゴニストの開発を目指して、アルキン部位を有する7-アザノルボルナン骨格をアジドとのclick反応で修飾する方法を用いて立体的かつ構造改変が容易な化合物群の構築を行っている。これまでに同法にて176化合物を合成し、未精製の化合物の各種OR活性に対する評価を行ったところ、 μ ORに対して2種 (SYK-1260、1261)、 δ ORに対して3種 (SYK-1262、1263、1264)、 κ ORに対しては4種 (SYK-900、990、1265、1266)、計9種の化合物がOR活性を示した。そこで、本研究では、この9種の化合物を単離・精製し、OR活性に対する2ndスクリーニングを行った。

【方法】 OR活性は、各種ORを各々安定発現させたHEK293細胞を用いて、受容体の活性を細胞内外の電気抵抗値で検出できるCellKeyシステムを用いて評価した。

【結果】 精製済みの9種の化合物のうち、SYK-900は μ 、 δ 、 κ ORのすべてに、SYK-990、1260、1266の3種は δ ORおよび κ ORに活性を示した。残り5種はORへの活性を示さなかった。

【考察】 本研究において、9種の化合物を2ndスクリーニングしたところ、 δ および κ ORのみを活性化し、 μ OR活性は示さないデュアル δ 、 κ 作動薬を3種 (SYK-990、1260、1266) 見出した。今後はこのデュアル δ 、 κ 作動薬3種の誘導体を合成して、構造活性相関情報の取得および選択性についての解析を進めていく。

神経障害性疼痛モデルラットの側坐核のdopamine放出へorexin受容体拮抗薬が及ぼす影響

○川島 央暉、三枝 禎

日本大・松戸歯学部・薬理学

【目的】

我々は睡眠・覚醒や摂食に関わる orexin-A の知覚神経への作用に関する研究から、一次知覚神経へ入力する orexin 神経の活動が炎症性または神経障害性疼痛で低下する可能性を報告した (Yamaguchi et al., 2020)。中脳辺縁系 dopamine (DA) 神経が投射する側坐核には orexin-A が作用する OX_1 , OX_2 受容体 (-R) が分布している。我々は OX_2 -R が側坐核の基礎 DA 放出を抑制することと、 OX_1 , OX_2 -R 拮抗薬の MK-4305 と OX_2 -R 選択的拮抗薬の EMPA の側坐核への局所投与で同部位の OX_2 -R の遮断により DA 放出が亢進することを報告した (Kawashima et al., 2022)。これらの拮抗薬の側坐核の DA 放出促進作用は、炎症性疼痛下では減弱することも一昨年の本学会で発表した。しかし、神経障害性疼痛が orexin-R 拮抗薬の惹起した側坐核の DA 放出の促進へ及ぼす影響は明らかでない。そこで坐骨神経を部分結紮したラットを用い、側坐核の基礎的な細胞外 DA 量と、MK-4305 と EMPA の側坐核への灌流投与が誘発した同部位の DA 量の増大に神経障害性疼痛が及ぼす影響について脳微小透析法により検討した。

【方法】

実験には S-D 系雄性ラット (約 300 g) を用いた。全身麻酔下で透析プローブ装着用ガイドカニューレを側坐核へ植立すると共に坐骨神経を剖出して 3-0 絹糸で 1/3~1/2 結紮し、術後 24 時間毎に von Frey filament による足底刺激に対する回避行動を分析した。対照群では坐骨神経の剖出のみを行った。手術から約 7 日後、微小透析膜 (直径 220 μ m, 長さ 2 mm) を先端に備えたプローブをガイドカニューレに装着して改良リンゲル液を流速 2 μ l/分で灌流し、5 分毎に側坐核から回収した細胞外液中の DA を HPLC-ECD 法で定量した。MK-4305 と EMPA は灌流液に溶解し、逆透析で側坐核に 60 分間灌流投与した。薬物の投与量は灌流液中の絶対量 (g) で示した。

【結果】

側坐核の基礎的な DA 量は、対照群と結紮群の間に目立った差はなかった。対照群の DA を MK-4305 (50 ng) の投与は約 50%, EMPA (90 ng) の投与は約 40% 増加させたのに対し、結紮群の DA を MK-4305 (50 ng) は約 25%, EMPA (90 ng) も約 20% しか増加させなかった。

【考察】

本研究でラットに実験的に誘発した神経障害性疼痛は、側坐核の基礎 DA 神経活動へ影響を及ぼさないことが推察された。MK-4305 または EMPA の側坐核への投与が誘発した同部位の DA 放出促進作用が減弱した理由として、側坐核の OX_2 -R による DA 放出抑制が神経障害性疼痛下では低下することが考えられた。

Methylglyoxal誘発ラット網膜傷害におけるミュラー細胞のYAPの発現変化

○奥山 祐未、柏原 俊英、矢崎 真由子、萩原 歩美、井上 紗栄、中原 努
北里大・薬・分子薬理

【目的】 Yes-associated protein 1 (YAP) は、Hippo経路の下流で働く転写調節因子であり、細胞の生存・増殖等を制御する。網膜においてYAPは、網膜特有のグリア細胞であるミュラー細胞に高発現するが、糖尿病網膜症におけるその役割は解明されていない。糖尿病では、解糖系副産物であるMethylglyoxal (MGO)が増加することが知られる。MGOは、終末糖化産物の前駆物質であり、酸化ストレスの増加を介して組織傷害を生じる。そのため、糖尿病合併症の病態形成への関与が示唆されている。そこで本研究では、MGO誘発網膜傷害がミュラー細胞のYAPの発現に与える影響を検討した。

【方法・結果】 7週齢の雄のSprague-Dawley系ラットを麻酔した後、生理食塩水又はMGO ($2 \mu\text{mol/eye}$) を硝子体内投与した。薬物投与1, 2, 4, 7日後の網膜ホモジネートを作製し、Western blot法でYAP及びHippo経路のYAP抑制キナーゼLATS1の発現量の変化を検討した。MGO投与2日後及び4日後では総YAP及び活性化型YAPの発現量は有意に増加したが、1日後及び7日後では生理食塩水群と同程度であった。一方、LATS1の発現量はMGO投与により変化しなかった。次に、生理食塩水又はMGO投与2日後の網膜のmRNA量をRT-qPCR法で検討した結果、Yap及びYap標的遺伝子Cyr61の有意な発現増加が認められた。最後に、MGO又は生理食塩水投与4日後の網膜凍結切片を作製し、免疫蛍光染色法により網膜におけるYAPの発現様式を検討した。YAPは、生理食塩水群及びMGO群のミュラー細胞に発現していたが、生理食塩水群と比べMGO群の方が蛍光強度は顕著に高かった。

【結論】 MGO誘発ラット網膜傷害において、YAPは主にミュラー細胞においてMGO投与2日後から4日後をピークに発現量が増加し、YAPシグナルを亢進することが示唆された。このYAPの増加は、Hippo経路非依存性であり、YAPのmRNA量の増加によることが示唆された。

宮古ビデンス・ピローサエキスは筋萎縮性側索硬化症モデルマウスのA1型アストロサイトの増加を選択的に抑制する

○浜野 裕衣¹、鶴田 こむぎ¹、宮岸 寛子¹、青野 悠里²、三枝 禎²、斎藤 稔³、小菅 康弘¹

¹日本大・薬・薬理、²日本大・松戸歯・薬理、³日本大・文理・生命科学

【目的】筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、運動ニューロンが選択的に変性・消失する進行性の疾患である。以前より、この運動ニューロンの変性にはミクログリアやアストロサイトの異常活性化が関与することが知られている。これまでに、我々の研究グループでは、沖縄県宮古島で栽培・加工された宮古ビデンス・ピローサエキス末（MBP）には、ALSモデルマウスのミクログリアやアストロサイトの増加を抑制し、生存期間を延長する作用があることを報告している。アストロサイトは、炎症性サイトカインを過剰に産生することで神経障害を誘発するA1型アストロサイトと神経栄養因子などを放出することで神経を保護するA2型アストロサイトに大別される。本研究は、MBPのALS治療効果解明の一環として、MBPがALSモデルマウスで生じるアストロサイトの活性化や分極に及ぼす影響について検証した。

【方法】MBPは、株式会社武蔵野免疫研究所より供与された。ALSモデルマウスには、SOD1^{G93A}トランスジェニックマウス（G93Aマウス）を用いた。ALS発症初期（15週齢）の雄性G93Aマウスに精製水で溶解したMBPを7日間経口投与（2 g/kg/day）し、腰髄内のmRNA発現量をreal-time PCR法により測定した。

【結果・考察】G93Aマウスの腰髄で増加するアストロサイトの種類について精査した。その結果、A1型アストロサイトのマーカーであるC3およびGbp2の発現とA2型アストロサイトのマーカーであるS100a10の発現が亢進した。同様に、炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-1 β 、およびIL-6の発現とともに、抗炎症性サイトカインであるTGF- β およびIL-10の発現も増加した。そのため、発症後のG93Aマウス腰髄ではA1型およびA2型アストロサイトがいずれも増加することが示唆された。MBPがこれらの増加に及ぼす影響を検討したところ、MBPはC3の発現を有意に抑制し、Gbp2の発現を抑制する傾向を示したが、S100a10の増加には影響を及ぼさなかった。また、MBPは炎症性サイトカインの発現増加は顕著に抑制したが、抗炎症性サイトカインの発現増加には影響を及ぼさなかった。以上の結果より、MBPのALS治療効果には、A1選択的なアストロサイトの発現制御による神経炎症抑制が関与することが示唆された。

炎症を生じた皮内における神経線維上のガングリオシドの分布

○渡辺 俊¹、齊藤 琉夏^{1,2}、東浦 愛^{1,2}、岩井 孝志^{1,2}、尾山 実砂^{1,2}、田辺 光男^{1,2}

¹北里大・薬、²北里大・薬・附属医薬研

生体膜には、親水性部分に糖鎖を有する脂質が含まれており、糖鎖の多様性から極めて多くの種類の糖脂質が存在する。神経細胞は、シアル酸を含有する糖脂質ガングリオシドを豊富に含み、ガングリオシドは神経軸索の伸長や維持に関与すると考えられている。これらのガングリオシドは、シアル酸の結合部位と数により、主にo-、a-、b-、c-シリーズと分類される。

これまで、b-シリーズガングリオシドGT1bをICRマウスの後肢足底へ投与すると痛みを引き起こすが、a-シリーズガングリオシドGM1aでは痛みに対して影響がないことを報告した。また、完全フロイントアジュバント (complete Freund's adjuvant, CFA)を投与して作製した炎症性疼痛モデルにおいて、炎症部位に*Arthrobacter ureafaciens*由来のシアル酸分解酵素を投与すると痛みが緩和されることを見出した。また、炎症が生じると、表皮内へ神経線維が伸長することが痛みの一因であると考えられているが、シアル酸分解酵素は表皮内神経線維数を抑制する効果があった。そこで、炎症性疼痛モデルの足底皮膚において、神経線維上にガングリオシドがどのように分布しているかを、抗GT1b抗体およびGM1aに結合するコレラトキシンBサブユニット (CTxB)により検討を行った。その結果、無処置マウスでは真皮内の神経線維はCTxBによりよく染色されたが、抗GT1b抗体では低い染色性を示した。しかし、炎症が生じるとCTxB染色性は変化しなかったが、抗GT1b抗体の染色性は、CFA投与後2時間で上昇し以降24時間後まで維持された。今回我々が用いたモデルではCFA投与後7時間以降、有意に表皮内へ伸長する神経線維が増大した。以上から、皮内神経線維にはガングリオシドが存在し、炎症が生じると神経線維伸長が盛んに行われる以前からGT1bガングリオシドの発現が上昇するが、GM1aガングリオシドは変化しないことが示唆された。そのため、炎症性疼痛の一因として、皮内神経線維におけるGT1bガングリオシドの発現の増大が神経線維伸長と痛みの増悪に関与している可能性が考えられる。

遺伝子改変マウスモデルを用いた心筋IKsチャネルリン酸化の役割の解析

○須藤 優香¹、西村 明幸²、三宝 誠³、坂本 多穂¹、平林 真澄³、西田 基宏^{2,4}、黒川 洵子¹

¹静岡県大・院薬、²生理学研・心循環シグナル、³生理学研・遺伝子改変動物、⁴九州大・院薬

緩徐脱分極型遅延整流性カリウムチャネル（IKsチャネル）は、中動物以上のサイズの大きい哺乳類の心室筋活動電位の再分極相に寄与し、細胞内Ca²⁺の上昇により活性化する。IKsチャネルは、 α サブユニットを構成するKCNQ1のホモ4量体と β サブユニットKCNE1の複合体として構成される。いずれの変異によっても先天性QT延長症候群が生じる。また、交感神経系の刺激により、KCNQ1のカルボキシル末端に結合したアダプター蛋白AKAP9を介して、KCNQ1N末端Ser27がPKAによりリン酸化されると、IKsチャネルは大きく増大する。この調節は本研究では、IKsチャネルの心臓における病態生理学的な役割を調べるために、心臓特異的に発現した遺伝子改変マウスを作製して、敗血症による病的な細胞内Ca²⁺上昇に対する代償的反応を調べた。マウスは心筋にIKsチャネルを持たないので、ヒトIKsチャネルを心臓特異的に発現させた。

マウス心臓特異的に発現 α MHCプロモーターの下流に、心筋IKsチャネルを構成するヒトKCNQ1とヒトKCNE1を連結した合成遺伝子を組み込んだプラスミドを作製した。敗血症病態と関連するシグナル（Ca感受性・交感神経調節）に重要な部位を欠落させたKCNQ1変異を有するクローン2種および野生型の計3系統のコンストラクトを作製した。生理学研究所にて遺伝子導入を開始しており、1つの変異クローンについては48匹の産仔を得、ジェノタイピングを開始した。

抗寄生虫薬niclosamideの既存薬再開発（drug repositioning）に向けた心臓安全性評価： β 遮断薬の併用により生じたKounis症候群の可能性

○神林 隆一、後藤 愛、中瀬古（泉） 寛子、武井 義則、杉山 篤
東邦大・医・薬理

【背景】 Niclosamideは条虫感染症の治療に長年使用されてきたが、近年、多様なシグナル経路への修飾作用およびSARS-CoV-2等への抗ウイルス活性が報告され、抗がん薬、抗炎症薬および抗ウイルス薬としての適応拡大が検討されている。Niclosamideの多領域での既存薬再開発に備えるための心臓安全性評価として、in vivo電気薬理学的作用を評価した。

【方法】 体重約10 kgのビーグル犬を1.5-2.5% isofluraneで麻酔維持した。実験1) 0.1および1 mg/kg/10 minのniclosamideを累積的に静脈内投与し、心行動態指標および第II誘導心電図を測定した (n=4)。実験2) β 遮断薬propranolol (1 mg/kg/5 min) 投与後に1 mg/kg/10 minのniclosamideを投与した (n=2)。

【結果】 実験1) 低用量のniclosamideは心行動態および心電図指標に有意な変化を示さなかった。高用量のniclosamideは心拍数、心収縮力、心拍出量および左室前負荷を増加し、末梢血管抵抗を減少した。また、収縮期血圧を増加したが、拡張期血圧を減少し、平均血圧を変化させなかった。さらに、房室伝導および心室内伝導を促進し、心室再分極時間を短縮した。実験2) Niclosamide投与開始4-6分後に、T波増高、ST上昇、PR延長およびWenckebach房室ブロックが誘発され、高度房室ブロックおよび完全房室ブロックに移行した。QRS幅はわずかに延長したが、PP間隔はほとんど変化しなかった。2例ともに同様の心血管反応を示し、循環虚脱を来たして死亡した。

【結論】 Niclosamideの単独投与は陽性変時・変力・変伝導作用および血管拡張作用を示し、isoproterenolの心血管作用に類似していたが、 β 遮断薬存在下においては、心機能を顕著に抑制した。心電図変化から下壁および房室結節における虚血の発生が推測されたが、洞房結節および心室内伝導はほぼ保たれていた。イヌでは左冠動脈回旋枝から房室結節動脈枝および後下降枝が分岐するので、責任冠動脈は回旋枝と推測された。以上より、 β 遮断薬の投与がniclosamideによるKounis症候群I型（アレルギー反応を伴う冠攣縮）を誘発した可能性があり、その併用には注意が必要と考えられた。

I 群抗不整脈薬の陰性変力・変時作用の比較

○濱口 正悟、日色 啓仁、出口 菜乃香、高橋 由菜、行方 衣由紀、田中 光
東邦大・薬・薬物

【目的】 Vaughan Williams分類第 I 群の抗不整脈薬は、心筋の興奮時に流れる Na^+ 電流成分(Peak I_{Na})を遮断することで、伝導を遅延させる。各種不整脈の治療に用いられ、 Na^+ 電流遮断作用を有する新たな抗不整脈薬も開発されつつあるが、第 I 群の抗不整脈薬の副作用として知られる催不整脈性や陰性変力作用、陰性変時作用には注意が必要である。陰性変力・変時作用に関しては、薬物間の差異を直接的に比較した情報は限られている。そこで本研究では第 I 群抗不整脈薬の摘出心室筋収縮力および心房筋拍動数に対する影響を比較し、陰性変力・変時作用の機序について検討した。

【方法】 Hartley系雄性モルモットから右心室乳頭筋標本および右心房筋標本を作製し、Krebs-Henseleit栄養液中で収縮力および拍動数を測定した。心室筋標本は、閾値の1.5倍の電圧で定頻度電気刺激を与え、一部の実験ではHigh K^+ 栄養液中でも収縮力を測定した。

【結果】 今回検討した全ての第 I 群抗不整脈薬で陰性変力作用および陰性変時作用が観察された。陰性変力作用に関しては、aprimidine, cibenzoline, propafenone, flecainideで強く、disopyramide, ranolazine, mexiletine, pilsicainideでは弱い作用が観察された。この傾向は Na^+ チャネルが不活性化されるHigh K^+ 溶液中で測定した場合もほぼ同様であった。また、陰性変時作用に関しても、陰性変力作用と同様の傾向がみられ、aprimidine, cibenzoline, propafenone, flecainideで強く、disopyramide, ranolazine, mexiletine, pilsicainideでは弱い作用が観察された。薬物間での陰性変力・変時作用の差異は、過去に報告されているL型 Ca^{2+} チャネル遮断作用の強弱と相関した。

【考察・結論】 第 I 群抗不整脈薬の陰性変力・変時作用に薬物間で差異が生じる原因として、L型 Ca^{2+} チャネル遮断作用の強弱の影響が大きいことが判明した。既存の I 群抗不整脈薬からの薬剤選択や、新たな作用様式を有する Na^+ チャネル遮断薬開発の際に、L型 Ca^{2+} チャネル遮断作用の強弱を考慮することの重要性が示唆された。

ラット肺静脈心筋の間欠型自発活動におけるカリウム電流の寄与

○坂井 海斗、唐鎌 拓海、根立 柚希、濱口 正悟、行方 衣由紀、田中 光
東邦大・薬・薬物

【背景・目的】人や多くの実験動物の肺静脈の基部には心房から連続する心筋細胞層が存在し、異所性自動能を有する。ラットの肺静脈心筋の電氣的自発活動は、Noradrenaline存在下でのみ観察される点や発火が間欠的である点で、モルモットやウサギの自発活動とは異なっていた。本研究では、このようなラット肺静脈心筋の自発活動が生じる電気生理学的背景を明らかにすることを目的とした。

【方法】ラット肺静脈摘出組織標本の心筋層にガラス微小電極を刺入し、電気活動を記録した。

【結果・考察】自発活動の発生していないラット肺静脈心筋（膜電位：-67.7 mV）にNoradrenaline (10 μ M) を処置すると、静止膜電位の過分極側へシフト(-77.3 mV)に続いて脱分極側へのシフト(-54.2 mV)が観測され、その後、連続発火と休止を繰り返す間欠型の自発活動が発生した。間欠型の自発活動では、連続発火に伴い最大拡張期電位が過分極側へ徐々にシフトしており、再分極に関わる電流成分の増大が進行していると考えられた。そこで、カリウム電流に注目し、遮断薬の効果を検討した。遅延整流性カリウム電流の遅い成分 (IKs) の遮断薬であるHMR 1556 (1 μ M) により静止時の膜電位に変化はなかったが (-67.7 mV)、Noradrenalineを処置したときの過分極側へのシフトが抑制され(-74.7 mV)、すべての肺静脈心筋で間欠型ではなく連続型の自発活動が観測された。一方、遅延整流性カリウム電流の早い成分 (IKr) の遮断薬であるE-4031(30 nM)存在下でNoradrenalineを処置すると、Noradrenaline単独処置時の膜電位変化とほぼ変わりなく、またNoradrenaline単独処置時と同様に連続型ではなく間欠型の自発活動が観察された。

以上のことから、ラット肺静脈心筋の間欠型の自発活動の発生要因としてIKsの寄与があると考えられた。

ノルフロキサシンの心室再分極への影響 – イソフルラン麻酔モルモットを用いて –

○津久井 楽南、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【背景・目的】クロペラスチンとセフポドキシムプロキセチムを服用中の患者にニューキノロン系抗菌薬ノルフロキサシンを追加投与した翌日に意識消失を示した症例が報告され、ノルフロキサシンが薬物性QT延長症候群の原因薬である可能性が指摘されている（平木ら。Heart View, 2000）。一方、hERG K⁺チャネルに対するin vitro実験系でノルフロキサシンは300 μMまで無影響と報告されている。この有害事象と被疑薬との因果関係を明確にするため、in vivo評価系としてイソフルラン麻酔モルモットを用いてノルフロキサシンの心筋再分極に対する作用を検討した。また、再分極遅延作用の強度を明確にするため、類薬で薬物性QT延長症候群の原因薬物として知られるスパルフロキサシンの作用と比較した。

【方法】Hartley系モルモットをイソフルランで麻酔し、体表面心電図および頸動脈圧を測定した。右頸静脈から右心室に単相性活動電位（MAP）記録/電気刺激兼用電極カテーテルを挿入し、右心室のMAP波形を洞調律および電気刺激下（刺激長300と250 ms）で記録した。ノルフロキサシン及びスパルフロキサシン（いずれも、1、5、10及び20 mg/kg）をそれぞれ10分間かけて静脈内に持続投与し、QT間隔ならびにMAP持続時間（MAP90）の変化を経時的に観察した。

【結果】スパルフロキサシンは、5 mg/kgから心拍数低下及びQT間隔、洞調律下とペーシング下でのMAP90を用量依存的に延長させ、QT間隔の変化量はそれぞれ+30.5 ms、+67.2 ms、+112.3 msであった。一方、ノルフロキサシンは、いずれの用量でも心拍数、血圧、および洞調律下とペーシング下でのMAP90に影響を与えなかったが、20 mg/kgではQT間隔のみを有意に延長させ、QT間隔の変化量は+9.2 msと僅かであった。

【考察・結論】ノルフロキサシンは臨床での最大投与用量である20 mg/kgで心室再分極時間の延長を認めたが、スパルフロキサシンに比べて変化幅は小さいことから、臨床使用においてQT延長作用のリスクは低いと考えられた。背景で述べた症例で認められた有害事象は、本研究結果に基づくとノルフロキサシンが原因である可能性は低いと考えられた。

ブレクスピプラゾールがイソフルラン麻酔モルモットの心室再分極過程に与える影響ーアリピプラゾールとの比較ー

○金子 萌季、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【背景】ブレクスピプラゾールは2018年に発売されたフェニルピペラジン骨格を有する非定形抗精神病薬である。医薬品副作用データベース（JADER）では、ブレクスピプラゾールを服用中の患者でQT間隔延長や不整脈などの有害事象が複数報告されているが、同薬と有害事象との因果関係は明確に示されてない。本研究は、ブレクスピプラゾールが生体心の心室再分極過程に与える影響を、イソフルラン麻酔モルモットを用いて検討した。また共通骨格を有し、*in vitro*研究においてhERG K⁺チャンネルに対する抑制作用がブレクスピプラゾール（IC₅₀=0.117 μM）と同等のアリピプラゾール（IC₅₀=0.11 μM）も併せて検討した。

【方法】Hartley系モルモットをイソフルランで麻酔し、体表面心電図を測定した。右外頸静脈から右心室に単相性活動電位（MAP）記録/電気刺激兼用電極カテーテルを挿入し、右心室のMAP波形を洞調律および電氣的刺激下（刺激長300と250 ms）で記録した。ブレクスピプラゾールおよびアリピプラゾールは、4用量（0.03、0.3、3および9 mg/kg）をそれぞれ10分間かけて静脈内投与した。心電図指標ならびに90%MAP回復時間（MAP₉₀）の変化を経時的に観察した。

【結果】ブレクスピプラゾールは3 mg/kgから心拍数を低下させ、QT間隔とMAP₉₀を延長した。また、ブレクスピプラゾールは9 mg/kgで、上記に加えてQRS幅も延長した。一方アリピプラゾールは0.3 mg/kgで刺激長300 msの条件下のMAP₉₀を延長させ、3 mg/kgから心拍数を低下させ、QT間隔、PR間隔、およびMAP₉₀を延長した。

【考察・結論】ブレクスピプラゾールとアリピプラゾールは、ともに3 mg/kgで心室再分極遅延作用を示した。これは、臨床用量を基準に考えるとそれぞれ100倍および10倍に相当することから、両薬剤ともに臨床用量での使用では心室再分極過程に与える影響は少ないと考えられる。今回の実験結果を考えると、臨床報告による再分極異常に伴う有害事象の出現にブレクスピプラゾール自体が関与した可能性は低いと考えられた。

三環系抗うつ薬ノルトリプチリン、アミトリプチリンの過量投与時の心臓電気生理学的作用 – イソフルラン麻酔モルモットでの検討 –

○影山 夏奈、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【背景・目的】過量服用はうつ病等の患者に対する薬物治療で一層の配慮が必要とされる課題である。抗うつ薬の副作用として、不整脈やQT間隔延長、伝導障害等の心電図異常が添付文書で提示されているが、救急外来で経験する1日最大投与用量を超える過量服用時の心臓電気生理学的変化に関する情報は限られている。本研究では、三環系抗うつ薬であるノルトリプチリンとアミトリプチリンの過量投与時の心臓電気生理学作用を検討した。

【方法】Hartley系モルモットをイソフルランで麻酔し、体表面心電図および頸動脈圧を測定した。右外頸静脈から右心室に単相性活動電位（MAP）記録/電気刺激兼用電極カテーテルを挿入し、右心室のMAP波形を洞調律および電気刺激下（刺激長300と250 ms）で記録した。1、3、10および30 mg/kgのノルトリプチリンまたはアミトリプチリンをそれぞれ10分間かけて静脈内に持続投与し、心電図指標ならびにMAP持続時間（MAP₉₀）の変化を経時的に観察した（各n=6）。

【結果】ノルトリプチリンは1および3 mg/kgでは各心電図指標ならびにMAP₉₀に影響を与えなかった。10 mg/kg以上でP波幅、PQ間隔、およびQRS幅を延長させたが、QT間隔ならびにMAP₉₀に影響を与えなかった。30 mg/kgの投与中に全例に重度な伝導障害による心血管虚脱が生じた。アミトリプチリンは、1および3 mg/kgでは各心電図指標ならびにMAP₉₀に影響を与えなかった。10 mg/kg以上でP波幅、PQ間隔、およびQRS幅に加えて、QT間隔を延長させたが、MAP₉₀に影響を与えなかった。30 mg/kgの投与中に6例中5例に重度な伝導障害による心血管虚脱が生じた。

【考察・結論】ノルトリプチリンとアミトリプチリンの10 mg/kgでは心房および心室内の伝導障害が生じやすく、30 mg/kgでは伝導障害がさらに高度となり血行動態が破綻することが示された。以上より、両薬剤の過量服薬が推定された際には、添付文書に提示されている心室再分極異常に比べて心室内伝導障害への対応に注力する必要性が考えられた。

Angiotensin IIの急性投与が生体位モルモット心臓での薬物誘発性QT延長に及ぼす影響

○近田 里葉、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【背景・目的】持続的な徐脈に起因する慢性心不全は、電気的リモデリングにより心筋再分極異常（QT間隔延長）を生じさせ、致死性不整脈の発生原因となることが知られている。このリモデリングに慢性心不全に伴う神経液性因子の変化が関与する可能性が考えられるが、詳細は明らかでない。本研究ではアンジオテンシンII（AT）に着目し、ATの急性作用が心室再分極異常に対し修飾作用を示すか否かをモルモットモデルで検討した。心室再分極異常の誘発には急速活性型遅延整流カリウム電流（ I_{Kr} ）遮断作用を有するスパルフロキサシン（SPFX）を用いた。また、ATと同様にGq共役型受容体刺激作用（Gq）を有するメトキサミン（MET）を用い、同程度の昇圧を示す用量で同様の検討を行った。

【方法】イソフルラン麻酔モルモットの体表面心電図と、右心室の单相性活動電位（MAP）を洞調律および電気的刺激下（刺激長300と250 ms）で記録した。モルモットを3群に分け、AT（100 ng/kg/min）、MET（30 μ g/kg/min）、または生理食塩水の持続投与を開始後に血行動態が安定したところで、SPFX（3, 10 mg/kg）をそれぞれ10分間かけて静脈内投与し、QTならびに90% MAP持続時間（MAP₉₀）の変化を観察した。

【結果】SPFX投与直前のQT間隔は、3群間で有意差はなかった。SPFXの投与により、AT群ではSPFX高用量で、MET群と生理食塩水群では低用量から心拍数減少、およびQT間隔とMAP₉₀の延長作用を認めた。SPFXの投与によるQT間隔とMAP₉₀の変化量は、SPFX低用量投与時はAT群で小さかったが、SPFX高用量投与時では3群間で同等であった。催不整脈性の指標となるMAP₉₀の時間的ばらつき（STV）は、AT群およびMET群でSPFX投与前の段階で増大傾向が認められた。

【考察・結論】ATの急性投与はSPFX低用量によって引き起こされる軽度の I_{Kr} 遮断による心室再分極延長を抑制したがSTVを増大させたことから、ATは薬物性QT延長の有無またはその程度により抗不整脈または催不整脈の双方向に作用する可能性が示された。また、METは I_{Kr} 遮断による心室再分極延長に対する抑制を認めなかったことから、ATの抗不整脈作用はGqと独立した機序によると考えられた。

バソプレシンが麻酔ウサギの血管弾性におよぼす影響

○齊木 貴行、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【目的】

バソプレシンは V_{1a} 受容体を介した血管平滑筋収縮作用により循環動態調節に関与するが、大動脈を含めた導管動脈の血管弾性に及ぼす影響に関する知見は少ない。当研究室で確立した血管弾性のin vivo計測法を用いてバソプレシンが血管弾性に与える影響を評価し、バソプレシン負荷中に観察される血管弾性変化に及ぼす迷走神経の役割について併せて検討した。

【方法】

イソフルラン麻酔下のNZWウサギを用い、心電図、心音図および大腿動脈血流を記録した。右上腕動脈、右脛骨動脈、および左総腸骨動脈起始部の血圧を同時計測し、大動脈領域と大腿動脈領域の区間毎の脈波伝播速度より大動脈分岐部を境界点とした血管弾性の指標である β 値（aortic β とfemoral β ）を領域別に計測した。投与前値を計測した後に、バソプレシン（1, 3, 10, 30, 100 ng/kg/min）を10分毎に累積的に静脈内投与し、各指標の変化を観察した。迷走神経切断群における検討では、両側迷走神経を頸部で外科的に切除し、心血行動態が安定した後に実験に供した。

【結果】

バソプレシンは1 ng/kg/min以上で血圧を用量依存的に上昇させ、心拍数を減少させた。Aortic β は3および10 ng/kg/minの用量で低下し、この低下作用は30 ng/kg/minより減弱した。Femoral β は30 ng/kg/min以上の用量で上昇した。迷走神経切断群では、バソプレシンは血圧上昇を示し、反応の程度は神経非切断群と同程度だった。心拍数低下作用は神経非切断群と比較してやや小さい傾向にあった。Aortic β は3 ng/kg/min以上の用量で低下し、神経非切断群で30 ng/kg/minより認められたバソプレシンによるaortic β の低下作用の減弱は神経切断群では認められなかった。Femoral β は100 ng/kg/minで上昇した。

【結論】

バソプレシンは昇圧作用を示す用量（1 ng/kg/min）に比較して高い30 ng/kg/min以上の用量で大動脈領域と大腿動脈領域の血管弾性を低下させる作用を示すことが確認された。迷走神経はバソプレシンが大動脈領域の血管弾性を上昇させる作用に対して抑制的に機能しており、バソプレシン存在下における導管動脈の弾性機能は自律神経を介した心機能変化により修飾される可能性が示唆された。

Rhoキナーゼ阻害薬が麻酔ウサギの動脈血管弾性に及ぼす影響

○松本 茉奈実、永澤 悦伸、相本 恵美、高原 章
東邦大・薬・薬物治療学

【目的】 Rhoキナーゼ阻害薬はクモ膜下出血後の遅発性脳血管攣縮に加え、近年では冠動脈内投与により難治性冠攣縮の解除を目的に使用されるなど臨床適用が拡大している血管拡張薬である。本研究ではRhoキナーゼ阻害薬の動脈血管に対する作用特性を明確にするため、血管平滑筋の弛緩に関与するROCK-1に対する阻害作用の力価が異なるファスジルとリパスジル（それぞれの IC_{50} は0.29および0.051 μ M）を用い、両薬物が血圧および血管弾性に及ぼす作用を麻酔ウサギを用いて検討した。

【方法】 イソフルラン麻酔下のNZWウサギより心電図、心音図ならびに大腿動脈血流量を記録した。右上腕動脈、左総腸骨動脈起始部および右腓骨動脈の血圧を同時測定し、大動脈分岐部を境界点とした大動脈領域と大腿動脈領域の区間毎の脈波伝播速度をCAVI測定法に基づき測定し、血管弾性の指標である β 値を領域別に(aortic β と femoral β)求めた。ファスジル(0.3, 1, 3, 10 mg/kg)またはリパスジル(0.03, 0.1, 0.3, 1 mg/kg)を10分間で静脈内投与し、投与開始30分後まで各指標の変化を観察した。

【結果】 ファスジルは3 mg/kg以上の用量で血圧と下肢血管抵抗を低下させ、femoral β に減少傾向を認めた。一方、10 mg/kgでaortic β を上昇させた。リパスジルは0.3 mg/kg以上の用量で血圧と下肢血管抵抗を低下させ、1 mg/kgでfemoral β を減少させた。一方、0.3および1 mg/kgでaortic β に上昇傾向を認めた。

【結論】 ファスジルとリパスジルは各々のROCK-1に対する阻害作用の力価に応じて細動脈拡張作用を介した血圧低下と下肢血管抵抗低下を示した。これらの作用に加え、Rhoキナーゼ阻害は大腿動脈領域に存在する血管平滑筋に対する弛緩作用を通じて血管弾性能を上昇させる作用特性を有することが明らかとなった。この作用は大動脈領域では観察されないことから、血管弾性制御におけるRhoキナーゼの役割は血管領域により異なると考えられた。

モルモット胸部大動脈平滑筋のフェニレフリンによる収縮反応はストア作動性Ca²⁺チャネル及び電位依存性Ca²⁺チャネルと機能的に共役した α_{1L} -アドレナリン受容体の刺激によりもたらされる

○松山 祐輔、De Dios Regadera Montserrat、矢代 彩乃、三代川 真弓、井浦 瑠美、吉岡 健人、小原 圭将、田中 芳夫

東邦大・薬・薬理

α_{1L} -アドレナリン受容体 (AR) は、 α_1 -AR拮抗薬であるプラゾシンに対して低い親和性 ($pA_2 < 9$) を示し、 α_{1A} -AR拮抗薬であるタムスロシン/シロドシンに対して高い親和性 ($pA_2 \approx 10$) を示す受容体である。 α_{1L} -ARは、下部泌尿器・生殖器平滑筋に豊富に存在することや一部の血管平滑筋にも存在する可能性が示唆されている。ただし、 α_{1L} -AR受容体の活性化によりもたらされる細胞内情報伝達機構に関しては、これまでのところ検討されていなかった。本研究では、 α_{1L} -AR受容体の存在が示唆されているモルモット内皮除去胸部大動脈平滑筋標本を用いて、フェニレフリン (Phe; α_1 -AR刺激薬) による収縮反応に α_{1L} -ARが関与する可能性を検証するとともに、 α_{1L} -ARの活性化による細胞内情報伝達機構について、Ca²⁺流入経路に注目して検討した。Pheによる収縮反応は、プラゾシン/タムスロシンによって競合的に拮抗され、それらの pA_2 値はそれぞれ8.53/9.74と算出された。また、Pheによる収縮反応は、シロドシンでも濃度依存的に拮抗されたが、その拮抗様式は競合的なものではないと言えなかった。なお、シロドシンの見かけ上の pA_2 値は9.48と算出された。一方、Pheによる収縮反応は、 α_{1B} -AR拮抗薬 (L-765314)、 α_{1D} -AR拮抗薬 (BMY 7378)、 α_2 -AR拮抗薬 (ヨヒンビン/イダゾキサソ) ではほとんど抑制されなかった。また、Pheによる収縮反応は、Gqタンパク質阻害薬 (YM-254890) や細胞外液からCa²⁺を除去することにより顕著に抑制され、電位依存性Ca²⁺チャネル (VDCC) 抑制薬 (ベラパミル) により部分的に抑制された。ベラパミル存在下で残存した収縮反応は、受容体作動性Ca²⁺チャネル (ROCC) 抑制薬 (LOE 908) ではわずかにしか抑制されず、ストア作動性Ca²⁺チャネル (SOCC) /ROCC抑制薬 (SKF-96365) により強力に抑制された。モルモット胸部大動脈での α -AR及びSOCC関連分子をコードするmRNAの発現をRT-qPCRにより測定したところ、 α -ARのmRNAでは α_{1A} -AR (Adra1a) が、SOCC関連分子のmRNAではOrai3、Orai1、Stim2が多く存在していた。これらの結果は、モルモット胸部大動脈平滑筋のPheによる収縮反応が、Gqタンパク質と共役した α_{1L} -ARの刺激とそれに続くSOCC/VDCCの活性化によって引き起こされることを示している。

マウスにおける敗血症性不整脈の解析と性差の解析

○安藤 侑馬、岩鶴 果奈、清水 聡史、児玉 昌美、黒川 洵子、坂本 多穂
静岡県立大・薬・生体情報分子解析学分野

【背景】敗血症は、感染に起因する制御不能な宿主反応による多臓器不全である。中でも心拍出量低下と不整脈からなる敗血症性心筋症は各種臓器の酸素需要供給の不均衡につながり、予後に関与する。しかし、敗血症病態における、心電気活動異常の実態とその機序は不明点が多い。本研究では、マウス敗血症病態モデルにおける心電図解析と網羅的遺伝子発現解析を行い、敗血症性不整脈発症機構の解明を目的とした。また、敗血症生存率には性差があり、疫学的に女性は男性より生存率が高く、動物実験でも同様の結果が報告されている。この性差分子機構を明らかにし、心機能障害と性差の関与について解明することを目標とする。

【方法】敗血症モデルマウス作製には盲腸結紮穿孔法(CLP)を用いた。敗血症病態の重症度はCLP24時間後のマウス敗血症スコアと前肢握力で定量化した。敗血症心電図解析では、CLP前とCLP24時間後に、双極誘導心電図を記録し、LabChart ECG モジュールで解析した。また、敗血症時の心臓の遺伝子発現変化を調べるため、公共データを用い、野生型C57BL/6J(WT)雄マウスでのNGSによるRNA-seqの解析を行った。敗血症性差の解析法のために、性転換マウス(B6.Cg-Tg(Sry)2Ei Srydl1Rlb/ArnoJ)を用いた。

【結果】敗血症WTマウスの心電図解析では、敗血症重症度の高いマウスにおいてPR間隔およびQRS間隔が延びる相関があった。これは敗血症による伝導障害の発生と伝導障害による症状悪化の可能性を示す。RNA-seqでは、CLP 6 h 後、24 h 後ともに、免疫応答関連のPathwayの変動を確認した。性転換マウスの解析において敗血症生存率は、XXのみ他群と比較して有意に高かった。また、敗血症病態もXXで軽症傾向であった。FCGマウスの心電図解析では、同じく重症度の高いマウスにおいてPR間隔およびQRS間隔が延びる傾向がみられ、さらにQRS間隔に関してはXXで特にその傾向がみられた。

【考察】心電図解析から、マウスの敗血症重症時には伝導障害がみられることがわかった。軽症例で心電図波形に大きな影響がみられないことから、敗血症時の伝導障害は、症状がある閾値に達すると急激に進展すると考えられる。一方、性差に関してはQRS間隔の延長はXXで高頻度に発生していた。QRS間隔の延長は、心室筋の伝導障害が原因であるが、XXは敗血症病態が軽症傾向であることから、実際の心拍出量などとの関連も考える必要がある。

腎臓における性腺由来・性染色体由来を区別した遺伝子発現性差の網羅的解析

○岸本 隼弥¹、杉本 早穂¹、水野 葵¹、清水 聡史^{1,2}、Kongpracha Pornparn²、宮坂 政紀²、Pattama Wiriyasermkul²、坂本 多穂¹、中井 雄治³、永森 収志²、黒川 洵子¹

¹静岡県立大・薬・生体情報分子解析学分野、²東京慈恵会医科大・医・臨床検査医学講座・SI医学応用研究センター、³弘前大・地域戦略研究所・食料科学研究部門

【背景】薬物動態の男女差を考慮する際に、腎機能の性差による排泄の違いは重要となる。中でも尿細管における分泌・再吸収は特異性が高く、性差が顕著にみられる。腎臓のいくつかの分子は性腺の影響により発現パターンを変化させることが知られているが、近年、性差形成には、性腺だけでなく性染色体も関与することが明らかとなっている。そこで、本研究では、腎機能の性差が生じる分子機構を理解するために、性染色体と性腺の影響を区別して解析できる性決定遺伝子 *Sry* を改変した性転換マウスの腎臓を用いて、性染色体、性腺の違いが、どのように腎臓の性差を形成するかについて検討した。

【方法】性染色体由来と性腺由来の性差を区別するために、4種類のFCG(Four core genotype) 8週齢マウスを使用した。マウスから腎臓組織を摘出し、HBSS(-)を灌流させて脱血を行った。その後RNA抽出を行い、BioanalyzerでRNAの品質評価後、DNAマイクロアレイ解析を行った。|Fold-Change| > 1.4かつ $p < 0.05$ であるものを性差遺伝子と定義した。性差遺伝子のパスウェイ解析にはMetascape、DAVID、QIAGEN IPAソフトウェアなどを用いた。また、尿細管刷子縁膜上の膜タンパク質を標的としたプロテオミクス解析データと比較することで、機能分子の関連について考察した。

【結果・考察】マイクロアレイ解析の結果主成分解析より、性腺由来の差が大きく、性染色体由来の性差は小さいことが示唆された。また、性染色体由来、性腺由来の性差遺伝子として、それぞれ約150個と約1000個が同定された。パスウェイ解析の結果、主に性染色体由来の性差は、細胞間シグナリング・相互作用など、性腺由来の性差は、脂質代謝や分子輸送に関与していることがわかった。また、尿細管刷子縁膜上の膜タンパク質の発現性差を解析した膜プロテオームの結果と本研究の結果を比較したところ、タンパク質発現量で確認された性差の中には、転写調節の違いでは説明できないものも存在した。この結果は、腎臓の性差形成には、転写調節だけでなく、翻訳後修飾や膜タンパク質相互作用等も影響することを示唆する。

ジメチルスルホキシド（DMSO）はアセチルコリンエステラーゼ活性を阻害することでラット膀胱平滑筋のアセチルコリン誘発性収縮を増強する

○小原 圭将、松岡 祐佳、岩田 直也、阿部 友佳子、池上 陽平、藤井 彩乃、吉岡 健人、田中 芳夫
東邦大・薬・薬理

ジメチルスルホキシド（DMSO）は、多くの薬物を溶解できることから実験用溶媒として汎用されているが、臨床ではハンナ型間質性膀胱炎の治療薬として使用されている（米国での承認は1978年、日本での承認は2021年）。ハンナ型間質性膀胱炎に対するDMSOの治療効果の機序はまだ完全には解明されていないものの、その治療効果の一部は、炎症部位での炎症性サイトカイン産生の抑制などの抗炎症作用と神経活動の抑制による鎮痛作用によりもたらされると推定されている。しかし、膀胱平滑筋の収縮反応に対するDMSOの影響はこれまでのところ十分には検討されていなかった。本研究では、DMSOがラット膀胱平滑筋標本の収縮反応に与える影響を調べるとともに、その効果をDMSOの硫黄原子が炭素原子に置き換わった構造を持つアセトンと比較した。また、DTNB（5,5'-ジチオビス（2-ニトロ安息香酸））法を用いて、組換えヒトアセチルコリンエステラーゼ（AChE）（rhAChE）活性に対するDMSO及びアセトンの効果についても検討した。DMSO（0.5-5%）はアセチルコリン（ACh）による膀胱平滑筋の収縮反応を増強した。一方、DMSO（5%）は、AChEにより分解を受けない合成コリンエステルであるカルバコールによる収縮反応に対しては抑制効果を示した。また、アセトン（3%及び5%）はAChによる収縮反応を抑制した。DMSO及びアセトン（0.5-5%）はいずれも、80 mM KClによる脱分極性収縮反応を濃度依存的に抑制したが、DMSOの抑制効果はアセトンの抑制効果よりも弱かった。これらのDMSO/アセトンの増強効果及び抑制効果はいずれも、洗滌操作によりほぼ完全に消失した。DMSO及びアセトン（0.5-5%）はいずれも、rhAChE活性を濃度依存的に阻害した。特に0.5%及び1%では、rhAChE活性に対するDMSOの阻害効果は、アセトンの阻害効果よりも強力だった。これらの知見は、1）DMSOがAChE活性を阻害することでAChによる膀胱平滑筋の収縮反応を増強し、排尿機能を促進する可能性；2）DMSOがCa²⁺流入を介した膀胱平滑筋の収縮反応を抑制する作用を有するものの、AChによる収縮反応に対してはこの抑制効果よりもAChE阻害作用を介した増強効果の方が強力である可能性を示唆している。また、DMSOの硫黄原子が炭素原子に置き換わったアセトンでは、AChによる収縮反応に対する増強効果が認められなかったことから、DMSOの硫黄原子が本増強効果に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

オートファゴソーム形成に対するセラミドキナーゼの関与

○佐野 真澄、布能 英樹、本田 拓也、中村 浩之
千葉大・院薬・薬効薬理学

オートファジーは細胞内の主要な分解経路であり、有害なタンパク質凝集体や損傷したオルガネラの分解を通して、細胞内の恒常性を維持するために働く、全ての真核生物に備わっている細胞内のリサイクルシステムである。セラミドに代表されるスフィンゴ脂質は生体膜の主要な構成成分の一つであり、細胞内において重要な生理活性を有する。また、多くの報告のなかでスフィンゴ脂質がオートファゴソームの膜成分であることが示唆されている。

スフィンゴ脂質の中心代謝物であるセラミドがセラミドキナーゼ (Ceramide kinase: CerK) によって合成されるセラミド-1-リン酸 (Ceramide-1-phosphate: C1P) はオートファジーを誘導する可能性が示唆されている。しかし、その詳細なメカニズムは未だ不明である。そこで本研究ではヒト子宮頸がん細胞であるHeLa細胞の野生型 (WT)、当研究室で樹立されたCerK欠損細胞 (CerK-KO) を用いて、オートファジーにおけるCerK/C1Pの関与を解析した。

C1Pがオートファゴソームの形成を正に制御していることが示唆された。CerK-KO細胞ではWT細胞に比べてオートファジーの活性が低かった。WT細胞においてセラミドキナーゼのノックダウン及び阻害剤NVP-231によってCerKを阻害するとオートファゴソームの形成量は減少した。また、CerK-KO細胞にCerKをレスキューするとオートファゴソームの形成量が回復した。オートファジー活性測定プローブを用いてオートファゴソームの分解を評価したところCerK-KO細胞とWT細胞において変化は見られなかった。免疫蛍光染色によって細胞内局在を確認したところCerKとオートファゴソームは共局在していた。

CerK-KO細胞にCerKをレスキューするとオートファゴソームの形成は回復したが、酵素不活性化体CerK-G198Dをレスキューしても回復しなかったことから、CerKのタンパク自体ではなくC1Pがオートファジーに関与していると考えられる。免疫蛍光染色の結果より、CerKはオートファゴソーム上に局在し、C1Pを生成することでオートファゴソームの形成に寄与していると考えられる。

以上の結果より、細胞内のC1Pが減少するとオートファゴソームの形成量が減少すること、細胞内C1P量を変化させてもオートファゴソームの分解には寄与していないことから、CerK/C1Pがオートファゴソームの形成を正に制御していることが明らかとなった。

SARS-CoV-2感染によるヒト血液脳関門のバリア機能低下

○山田 茂¹、坂下 真大²、柳田 翔太¹、佐藤 寛之²、安彦 行人¹、岡部 かおり³、野田 隆政³、西田 基宏^{4,5}、松永 民秀²、諫田 泰成¹

¹国立医薬品食品衛研・薬理、²名古屋市立大・院薬、³国立精神・神経医療研究センター・精神、⁴九州大・院薬、⁵生理学研

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は、吐き気、めまい、頭痛、脳炎、てんかん発作など様々な神経症状を伴う感染症（COVID-19）を引き起こすことが知られている。しかしながら、脳微小血管内皮細胞に対するSARS-CoV-2の感染については、ほとんど明らかになっていない。

そこで本研究では、ヒトiPS細胞由来脳微小血管内皮細胞（iBMEC）を用いてSARS-CoV-2の感染とその影響について検討を行った。まずiBMECにSARS-CoV-2が感染し、Sタンパク質などが発現することを免疫染色にて確認した。iBMECのSARS-CoV-2感染により、タイトジャンクションマーカーであるCLDN3、CLDN11の発現が低下し、経内皮電気抵抗（TEER）の低下が認められた。次に、COVID-19患者で血中濃度が上昇する液性因子を検討したところ、iBMECにおいてSARS-CoV-2感染により炎症性サイトカインの発現上昇が認められた。さらに、RNA-Seq解析により、SARS-CoV-2がiBMECのWnt経路をターゲットにする可能性が見出された。Wnt活性剤を添加した結果、iBMECのSARS-CoV-2感染と炎症反応が部分的に抑制された。

以上より、SARS-CoV-2感染はWntシグナルを介して、BBBの機能低下を引き起こすことが示唆された。ヒトiPS細胞由来脳微小血管内皮細胞は、COVID-19の神経病理の解明や創薬に有用なin vitroモデルことが考えられる。

蓮の花エキスはTREK-1 (potassium channel subfamily K member 2; KCNK2)活性を阻害する

～TREK-1チャンネル阻害により抗不安・抗うつ作用を示す成分の食物・生薬

○小村 京子^{1,2}、宮野 加奈子²、井出 薫乃^{1,2}、室伏 美佳^{1,2}、曾 友佳^{1,2}、渥美 菜穂^{1,2}、野中 美希²、藤井 秀明¹、上園 保仁²

¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座

【背景・目的】漢方薬加味帰脾湯は14種類の生薬で構成され、神経症・精神不安・不眠症・貧血の改善に効果がある。近年、加味帰脾湯の精神不安や神経症の症状改善作用は、オキシトシンニューロンを介している可能性が報告されている。オキシトシンニューロンの興奮性を制御するイオンチャンネルのひとつに、TREK-1(potassium channel subfamily K member 2;KCNK2)がある。現在TREK-1抑制によりうつ病が改善するという報告に基づき、TREK-1阻害剤が新規抗うつ薬候補として開発されている。当研究講座では、加味帰脾湯はTREK-1活性を濃度依存的に阻害し、14構成生薬のうちの6生薬（酸棗仁、茯苓、当帰、柴胡、生姜、竜眼肉）の主要成分がTREK-1活性を阻害することを明らかにしている。そこで本研究では、新たな抗不安、抗うつ作用を有する候補薬の同定を目指し、加味帰脾湯と共通の効能を有するとされる7種の生薬、山査子、西紅花（サフラン）、蓮の花、鶏血藤、姜黄（ウコン）、靈芝、枸杞子（クコシ）に注目し、TREK-1活性阻害作用の解析を行った。

【方法】TREK-1安定発現human embryonic kidney cells 293 (HEK293) 細胞を用い、FluxOR™ Potassium Ion Channel AssayによりTREK-1活性に対する各種生薬の作用を評価した。K⁺イオンと同様の挙動を示すタリウムに結合すると蛍光を発する色素を細胞内に負荷し、同色素の蛍光強度を測定することによりTREK-1アゴニストML335によるTREK-1活性化に対する各生薬の効果を評価した。

【結果・考察】TREK-1安定発現細胞において、ML335 (10μg/mL)は蛍光強度を上昇させ、この上昇はTREK-1を発現していないHEK293細胞では認められなかった。次に、7種の生薬を各々10μg/mLにて2分間前処置し、ML335(10μg/mL)を処置したところ、蓮の花エキスのみがML335によるTREK-1活性を有意に抑制し、他の生薬には活性阻害作用は認められなかった。以上より、蓮の花エキスはTREK-1阻害活性作用を有することが明らかになり、現在蓮の花に含まれる主要成分についてTREK-1阻害活性を解析中である。

半夏瀉心湯は頭頸部がん化学放射線療法口腔粘膜炎モデルの症状を改善する

○曾友佳^{1,2}、宮野加奈子²、井出薫乃^{1,2}、渥美菜穂^{1,2}、小村京子^{1,2}、野中美希²、藤井秀明¹、上園保仁²

¹北里大・薬・生命薬化学教室、²東京慈恵会医科大・医・疼痛制御研究講座

【目的】 がん治療により発症する口腔粘膜炎は、健常者が経験するものと比較して広範囲でありかつ痛みは強く、がん患者の生活の質（Quality of life: QOL）を著しく低下させる。近年大腸がん患者を対象とした二重盲検無作為比較第Ⅱ相臨床試験において、漢方薬半夏瀉心湯（HST）が化学療法に起因する口腔粘膜炎の発現期間を有意に短縮（治癒）させることが明らかとなった。これまでに当研究室では、ヒト口腔上皮細胞（Human oral keratinocyte: HOK）を用いてHSTが抗炎症作用およびHOK遊走能を促進することでHSTの損傷治癒効果を高めることを見出した。しかし、口腔粘膜炎モデル動物を用いてのHSTによる口腔粘膜炎改善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、口腔粘膜炎が頻発する頭頸部がん化学放射線治療に着目し、本治療によく用いられる抗がん薬Cisplatin投与による口腔粘膜炎モデル動物を作製し、HSTの効果を解析した。

【方法】 Cisplatin投与による口腔粘膜炎モデルは、Wistar rat（雄, 6 week）にCisplatin（3 mg/kg/day）または生理食塩水をDay 0, Day 4に腹腔内投与し、さらにDay4において、口腔粘膜に50% acetic acid または生理食塩水を浸した濾紙（3×3 mm）を30秒間静置することにより口腔粘膜炎作製した。半夏瀉心湯はCisplatin投与開始日から混餌により与えた。口腔粘膜炎は visual oral ulcerative mucositis scoreを用いて評価し、加えて体重及び摂餌量を経時的に測定した。

【結果】 Cisplatin群ではControl群と比較し、口腔粘膜炎Scoreが有意に上昇し、また体重は減少した。一方1% HST + Cisplatin群では、Cisplatin群と比較し、体重及び摂餌量に有意な差はないものの、口腔粘膜炎Scoreは有意に改善された。

【考察】 本結果より、HSTはCisplatin投与による口腔粘膜炎を改善することが示唆された。現在同モデルの口腔粘膜組織を用いて、炎症性メディエーター、並びに粘膜バリア機能を制御する分子の関与についての解析を進めており、HSTによる口腔粘膜炎改善メカニズムの解明を行っているところである。