



# 第 72 回 日本薬理学会北部会

プログラム・抄録集 Program/Abstracts

会期 2021 年 9 月 23 日（秋分の日）

オンライン開催

主催 公益社団法人 日本薬理学会

共催 東北医科薬科大学

部会長 丹野 孝一 東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室

第 72 回 日本薬理学会北部会事務局

東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室内

〒981-8558 仙台市青葉区小松島 4 丁目-4-1

TEL/FAX: 022-727-0123

E-mail: [hokubu72@tohoku-mpu.ac.jp](mailto:hokubu72@tohoku-mpu.ac.jp)

## 第 72 回日本薬理学会北部会 役員名簿

部会長 丹野 孝一（東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室・教授）

実行委員 溝口 広一（東北医科薬科大学 薬学部 機能形態学教室・教授）

渡辺 千寿子（東北医科薬科大学 薬学部 機能形態学教室・准教授）

善積 克（東北医科薬科大学 薬学部 機能形態学教室・講師）

中川西 修（東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室・准教授）

八百板 富紀枝（東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室・准教授）

## ご挨拶

第72回日本薬理学会北部会

部会長 丹野 孝一

第72回日本薬理学会北部会をお世話させて頂くにあたりまして、ご挨拶申し上げます。日本薬理学会北部会は1950年（昭和25年）に仙台で第一回が開催されました。東北医科薬科大学では前身の東北薬科大学時代の1988年（昭和63年）に木皿憲佐先生が、1999年（平成11年）に佐々木健一先生が主催されております。個人的ではございますが、二人の恩師に引き続き歴史と伝統のある北部会の部会長を務めさせて頂けることを感慨深く感じています。

当初、本部会は東北医科薬科大学小松島キャンパスにて開催させて頂く予定でしたが、COVID-19感染拡大のため残念ながらオンライン開催に変更させて頂くことになりました。オンライン開催に不慣れではございますが、参加されます皆様にとって有益な学術集会になるようスタッフ一同、最善の努力をして運営に当たりますので、ご協力賜りますようお願い申し上げます。

本部会に33演題の応募を頂きました。そのうち、若手薬理学研究者の育成の一助として企画した学部学生・大学院生を対象とした優秀発表賞候補演題が8演題ございます。また、令和3年度西宮機能系基礎医学研究助成基金の受賞者5名の講演がございます。さらに、新たな試みとして特別講演を企画し、福永浩司先生（東北大学大学院薬学研究科・名誉教授）に『脳科学を基礎とするアルツハイマー病疾患修飾治療薬の開発』というタイトルでご講演頂きます。

本部会の開催にあたりまして、各方面から多大なご支援とご協力を頂きました。この場をお借りして厚くお礼申し上げます。

最後になりますが、ご参加くださる先生方ならびに学生の皆さんに感謝申し上げるとともに、北部会ならではの活発なディスカッションで盛会となりますようご協力のほどお願い申し上げ、ご挨拶とさせていただきます。

## 参加者へのご案内

第 72 回日本薬理学会北部会は Zoom ウェビナーを用いたリアルタイムでのオンラインで開催いたします。

### 参加者の視聴・討論

- (1) 視聴は「Zoom (要パスワード)」から入室 (参加) ください。
- (2) 視聴中マイクはミュートにしておいてください。
- (3) 質問は「手を挙げる」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

9 月 23 日、12 時 10 分から Zoom ウェビナーにて行います。

### 懇親会

新型コロナウイルス感染症の終息が見えてない状況下にあることを勘案して、懇親会は開催いたしません。

### 日本薬剤師研修センター認定受講シールの配布

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。ご希望の方には、受講シールを配布いたします。講演・発表中の Zoom チャット内に、2 種類のキーワードを掲示します。同じく Zoom チャット内に薬剤師研修センター認定申請用の URL を掲示しますので、こちらから手続きをお願いいたします。キーワードが正しく報告された方にシールを配布いたします。

#### 【キーワード報告方法】

- ① Zoom チャット内に掲示された薬剤師研修センター認定申請用の URL をクリックする。
- ② キーワードを入力する。初回時には、お名前、薬剤師免許番号、E-mail アドレス (参加登録と同一のもの) の入力もお願いいたします。(ご利用のブラウザの Cookie 設定がオフの場合、次回も E-mail アドレス等の入力が必要になります。)
- ③ 報告されたキーワードは、お手続きされた時刻も含めて自動で学会事務局に記録されます。

#### 【キーワード報告期限】 本会開催中

【シール交付方法】 開催終了後 1 週間を目途に学会事務局より郵送にて送付いたします。学会事務局からシールを発送したにも関わらず、万が一お手元に届かない場合でも、シールの再送付はできません。予めご了承ください。 ※下記の場合はシールを配布できませんのでご注意ください。

- ・キーワードがすべて一致しない場合
- ・報告期限を過ぎてご連絡いただいた場合
- ・参加登録されていない方から申請をいただいた場合
- ・入力した E-mail アドレスが本会の参加登録のものと異なる場合

(デジタル出席証明システムを使用します。詳細はホームページをご確認ください。)

## 薬理学エデュケーターポイントについて

本会では、薬理学エデュケーター認定制度の参加ポイントを発行します。講演・発表中の Zoom チャット内に、薬理学エデュケーターポイント申請用の URL を掲示します。掲示の 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）を入力してください。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。

(デジタル出席証明システムを使用します。詳細はホームページをご確認ください。)

## 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 10 分、質疑応答 4 分です。
- (3) 発表スライドは本部会ホームページ内の「座長・演者へのご案内」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。

## 日本薬理学雑誌補冊 (J-Stage での公開) 用抄録

提出済の抄録に変更がある場合は、変更したい抄録データを下記メールアドレスに9月24日(金)16時までに送ってください。

E-mail: [hokubu72@tohoku-mpu.ac.jp](mailto:hokubu72@tohoku-mpu.ac.jp)

## 優秀発表賞受賞者の方へ

優秀発表賞受賞者のお名前を特別講演終了後に Zoom の画面上に掲示いたします。受賞者は優秀発表賞表彰式・閉会式にご参加ください。

# 日程表

## 第72回 日本薬理学会北部会

9月23日（秋分の日）

口頭発表：Zoomウェビナー

	A会場	B会場
9:00	9:00 開会式	
	9:05-10:15 優秀発表賞候補演題 A-01~A-05	9:05-9:47 優秀発表賞候補演題 B-01~B-03
10:00	10:20-11:02 一般演題 A-06~A-08	9:50-10:46 一般演題 B-04~B-07
11:00	11:05-12:01 一般演題 A-09~A-12	10:50-11:46 一般演題 B-08~B-11
12:00	12:10-13:10 学術評議員会	
13:00	13:20-14:20 特別講演 SL-1 福永浩司	
14:00	14:30-15:40 西宮機能系基礎医学研究助成基金 受賞演題 A-13~A-17	14:30-15:40 一般演題 B-12~B-16
15:00	15:40-15:55 優秀発表賞表彰式・閉会式	
16:00		
16:30		

## A会場

9:05-10:15

座長：藤原 博典（医療創生大・薬）



- A-01** 前頭側頭型変性症で認めるアストロサイト様構造物に対するアミロイド・タウPET  
プローブの結合性評価  
9:05  
9:19 ○横山 裕香<sup>1</sup>、原田 龍一<sup>1</sup>、荒井 啓行<sup>2</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、古本 祥三<sup>3</sup>、岡本 信行<sup>4</sup>、  
谷内 一彦<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>東北大・院医・機能薬理学分野、<sup>2</sup>東北大・加齢医学研究所・認知症治療医薬開発寄付研究  
部門、<sup>3</sup>東北大・院薬・サイクロトロンRIセンター、<sup>4</sup>東北医科薬科大・医・薬理学
- A-02** 自然発症アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた新規電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャンネル  
拮抗薬の鎮痒作用の解析  
9:19  
9:33 ○松田 康佑<sup>1</sup>、澤幡 雅仁<sup>2</sup>、久米 利明<sup>2</sup>、歌 大介<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>富山大・院医薬・薬理、<sup>2</sup>富山大・学術薬和漢・薬理
- A-03** 葛藤行動試験系の構築と抗不安薬投与による影響  
9:33  
9:47 ○宮上 祐里佳<sup>1</sup>、南 雅文<sup>1</sup>、人羅 菜津子<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>北海道大・院薬・薬理学研究室、<sup>2</sup>熊本大・院生命科学
- A-04** アストロサイトのドパミン受容体とアドレナリン受容体を介したドパミンによるIL-6の  
転写促進と突起形成誘導効果  
9:47  
10:01 ○森本 康平、大内 舞、北野 泰佑、江口 遼太、乙黒 兼一  
北海道大・院獣医
- A-05** 脳内アミロイド・タウを生体画像化するための近赤外線蛍光プローブTHK565の  
性能評価  
10:01  
10:15 ○村田 大樹<sup>1</sup>、井上 まり絵<sup>1</sup>、長沼 史登<sup>1</sup>、中村 正帆<sup>1</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、岡村 信行<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>東北医科薬科大・医・薬理、<sup>2</sup>東北大・加齢研・認知症治療医薬開発

## A会場

10:20-11:02

座長：吉川 雄朗（東北大・院医・機能薬理）



### **A-06** 上皮成長因子による脊髄培養細胞のシスタチオンin $\beta$ - 合成酵素発現制御機構

10:20

10:34

○江口 遼太、東田 有矢、大内 瑞城、山口 聡一郎、乙黒 兼一  
北海道大・院獣医・薬理

### **A-07** Mirror image pain 発現機構におけるアストロサイトの関与

10:34

10:48

○渡辺 千寿子、善積 克、櫻田 忍、溝口 広一  
東北医科薬科大・薬

### **A-08** Cholecystokinin-8 脊髄腔内投与による疼痛関連行動における Substance P および hemokinin-1 の関与

10:48

11:02

○林 貴史<sup>1</sup>、我妻 恭行<sup>1</sup>、櫻田 司<sup>2</sup>、櫻田 忍<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>東北医科薬科大・薬・薬剤、<sup>2</sup>第一薬科大・薬、<sup>3</sup>東北医科薬科大・薬



## A会場

11:05-12:01

座長：佐藤 岳哉（東北大・院医・病態液性制御）



### A-09 血管平滑筋細胞の炎症に対する時計遺伝子BMAL1の関与

11:05

11:19

○高栗 郷、石坂 怜菜、佐々木 倫士、佐藤 久美  
北海道科学大・薬・薬理

### A-10 ラット心筋細胞において、Pdc1はmTOR阻害を介したオートファジー誘導によりドキシソルビシン誘発アポトーシスを抑制する

11:19

11:33

○菅野 秀一、蓬田 伸、原 明義  
東北医科薬科大・薬・薬物治療

### A-11 SIRT1はヒストンH2AXを脱アセチル化することによりドキシソルビシンによる心筋細胞障害に対して保護的に作用する

11:33

11:47

○久野 篤史、細田 隆介、多田 幸平、谷口 祥貴  
札幌医科大・医

### A-12 ヒト脳微小血管内皮細胞の自然免疫誘発に対するヤマブドウ成分の抑制作用

11:47

12:01

劉 旭<sup>1</sup>、今泉 忠淳<sup>2</sup>、○于 在強<sup>1</sup>、大徳 和之<sup>1</sup>、皆川 正仁<sup>1</sup>、菊地 晴久<sup>3</sup>、大島 吉輝<sup>4</sup>、元村 成<sup>5</sup>、古川 賢一<sup>6</sup>、瀬谷 和彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>弘前大・院医・胸部心臓血管外科学、<sup>2</sup>弘前大・院医・脳血管病態学、<sup>3</sup>慶應義塾大・薬・天然医薬資源学、<sup>4</sup>東北大・院薬・医薬資源化学分野、<sup>5</sup>弘前大・院医・病態薬理学、<sup>6</sup>弘前大・院医・整形外科学

## A会場

13:20-14:20 特別講演

座長：丹野 孝一（東北医薬大・薬・薬理）



### SL-1 脳科学を基礎とするアルツハイマー病疾患修飾治療薬の開発

13:20

○福永 浩司

14:20

東北大学大学院薬学研究科 名誉教授

## A会場

14:30-15:40

座長：若森 実（東北大・院歯・歯科薬理）



- A-13** 間質性膀胱炎／膀胱痛症候群におけるガバペンチノイドの治療機序  
14:30 ○善積 克、渡辺 千寿子、溝口 広一  
14:44 東北医科薬科大・薬・機能形態
- A-14** CDK8/19阻害薬によるマクロファージの機能修飾  
14:44 ○志賀 咲紀、水野 夏実、柳川 芳毅  
14:58 北海道医療大・薬・薬理学
- A-15** 吸入麻酔薬がニューロテンシン神経細胞の神経活動に及ぼす影響の検討  
14:58 ○長沼 史登<sup>1</sup>、中村 正帆<sup>1</sup>、Vetrivelan Ramalingam<sup>2</sup>、岡村 信行<sup>1</sup>  
15:12 <sup>1</sup>東北医科薬科大・医・薬理学、<sup>2</sup>ハーバード大学・医・神経学部門
- A-16** 低酸素環境におけるヒト肝細胞癌細胞株に対する Lenvatinib 抵抗性機序の解明  
15:12 ○高橋 将典<sup>1,3</sup>、岡田 浩司<sup>2,3</sup>、大内 竜介<sup>2,3</sup>、金野 太亮<sup>2,3</sup>、薄井 健介<sup>2,3</sup>、鈴木 裕之<sup>2,3</sup>、  
15:26 小暮 高之<sup>4</sup>、佐藤 麻理<sup>4</sup>、中村 仁<sup>2</sup>、佐藤 賢一<sup>4</sup>、村井 ユリ子<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>東北医科薬科大・院薬、<sup>2</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>3</sup>東北医科薬科大学病院・薬剤部、<sup>4</sup>東北医  
科薬科大学病院・消化器内科
- A-17** 内側視索前野に投射する扁桃体海馬野ニューロンは雄マウスの仔マウスに対す  
る攻撃行動を促進する  
15:26 ○佐藤 圭一郎、南 雅文、天野 大樹  
15:40 北海道大・院薬・薬理

## B会場

9:05-9:47

座長：菅野 秀一（東北医薬大・薬・薬物治療）



**B-01** The use of digitonin for the assessment of the effect of doxorubicin on autophagy flux

9:05 佐藤 岳哉<sup>1</sup>、○李冠傑<sup>2</sup>、戸田 法子<sup>4</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、山内 正憲<sup>4</sup>、谷内 一彦<sup>2</sup>

9:19

<sup>1</sup>東北大・院医・病態液性制御学分野、<sup>2</sup>東北大・院医・機能薬理学分野、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学分野、<sup>4</sup>東北大・院医・麻酔科学・周術期医学分野

**B-02** メトレキサート投与によるラット小腸組織傷害に対するナファモスタットの効果

9:19 ○山本 隆弘<sup>1</sup>、町田 拓自<sup>1</sup>、丹野 智歩<sup>1</sup>、長谷部 志織<sup>1</sup>、平出 幸子<sup>1</sup>、浜上 尚也<sup>2</sup>、  
9:33 飯塚 健治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大・薬・病態生理学、<sup>2</sup>北海道医療大・薬・衛生薬学

**B-03** 口腔扁平上皮がんのマウス移植片モデルを用いた抗EGFR抗体の抗腫瘍効果の検討

9:33

9:47

○七宮 蓮<sup>1</sup>、大石 智一<sup>2</sup>、浅野 禎三<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、鈴木 裕之<sup>3</sup>、金子 美華<sup>1</sup>、川田 学<sup>2</sup>、  
加藤 幸成<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬、<sup>2</sup>微化研・沼津、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学分野

## B会場

9:50-10:46

座長：小原 祐太郎（山形大・医・薬理）



### **B-04** 新規エピトープマッピング法（HisMAP法）を用いた抗CD20モノクローナル抗体のエピトープ解析

9:50

10:04

○浅野 禎三<sup>1</sup>、田中 智大<sup>1</sup>、佐野 雅人<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>2</sup>、鈴木 裕之<sup>2</sup>、金子 美華<sup>1</sup>、加藤 幸成<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬研究分野、<sup>2</sup>東北大・院医・分子薬理学

### **B-05** Nano-lucを用いたタンパク質間相互作用阻害剤の探索

10:04

10:18

○鈴木 裕之<sup>1</sup>、金子 美華<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・分子薬理学分野、<sup>2</sup>東北大・院医・抗体創薬

### **B-06** 低酸素環境に応答した核内遺伝子配置変化の解析

10:18

10:32

○中山 恒

旭川医科大・医・薬理学

### **B-07** 体内時計の光環境適応機能に対するラクトフェリンの強化作用機序の解明

10:32

10:46

○守屋 孝洋<sup>1,2</sup>、檀崎 有沙<sup>1</sup>、佐藤 可那江<sup>1</sup>、平澤 典保<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奥羽大・薬・機能形態、<sup>2</sup>東北大院・薬・生活習慣

## B会場

10:50-11:46

座長：山本 由似（東北医薬大・医・解剖）



### B-08 嗜銀顆粒性認知症に対するPETバイオマーカーの探索

10:50 ○原田 龍一<sup>1,2</sup>、堵 怡青<sup>1</sup>、Lerdsirisuk Pradith<sup>3</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、古本 祥三<sup>3</sup>、岡村 信行<sup>3,4</sup>、  
11:04 谷内 一彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医、<sup>2</sup>東北大・加齢研、<sup>3</sup>東北大・CYRIC、<sup>4</sup>東北医科薬科大・医・薬理学分野

### B-09 脂肪酸結合タンパク質およびドパミンD2受容体依存的な $\alpha$ シヌクレインの神経細胞取り込み機構と中分子治療薬の開発

11:04

11:18

○川畑 伊知郎、福永 浩司

東北大・院薬・先進脳

### B-10 脳報酬系の神経活動は末梢免疫系に影響を与える

11:18

11:32

○鹿山 将<sup>1,2</sup>、池谷 裕二<sup>1,3</sup>、佐々木 拓哉<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東京大・院薬・薬作、<sup>2</sup>東北大・院薬・薬理、<sup>3</sup>Beyond AI 研

### B-11 Captoprilの抗うつ作用における海馬アンジオテンシン系の関与

11:32

11:46

○中川西 修<sup>1</sup>、若生 美春<sup>1</sup>、小平 貴代<sup>1</sup>、小野 涼太郎<sup>1</sup>、高橋 浩平<sup>1,2</sup>、根本 互<sup>1</sup>、  
丹野 孝一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>2</sup>国際医療福祉大・薬・薬理

## B会場

14:30-15:40

座長：斎藤 将樹（東北大・院医・分子薬理）



- B-12** レスベラトロールはオートファジーを活性化して加齢による筋萎縮と運動機能低下を軽減する  
14:30  
14:44 ○細田 隆介、久野 篤史、中島 龍汰、朝倉 聖大、岩原 直敏、野島 伊世里、國本 梨沙、堀尾 嘉幸  
札幌医科大・医
- B-13** 長期粉末食飼育による結腸機能の低下－TRPV1 およびTRPV4の関与－  
14:44 ○八百板 富紀枝<sup>1</sup>、土谷 昌広<sup>2</sup>、丹野 孝一<sup>1</sup>  
14:58 <sup>1</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>2</sup>東北福祉大・健康科学・保健看護
- B-14** ROCKs 阻害による骨芽細胞分化促進メカニズムの解析  
14:58 ○柿原 嘉人、佐伯 万騎男  
15:12 新潟大・歯
- B-15** 細胞質ダイニン軽鎖Tctex-1によるGタンパク質共役型受容体/Gsシグナルの増強機構  
15:12 ○斎藤 将樹<sup>1</sup>、鈴木 裕之<sup>1</sup>、金子 美華<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>2</sup>  
15:26 <sup>1</sup>東北大・院医・分子薬理、<sup>2</sup>東北大・院医・抗体創薬
- B-16** ヒト乳がんのマウス移植片モデルにおける抗TROP2抗体の抗腫瘍効果の検討  
15:26 ○田中 智大<sup>1</sup>、大石 智一<sup>2</sup>、浅野 禎三<sup>1</sup>、佐野 雅人<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、鈴木 裕之<sup>3</sup>、  
15:40 金子 美華<sup>1</sup>、川田 学<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬、<sup>2</sup>微化研・沼津、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学





# 抄 録



## 脳科学を基礎とするアルツハイマー病疾患修飾治療薬の開発

○福永 浩司

東北大学大学院薬学研究科 名誉教授

認知症患者数が2025年には700万人を超える。認知症の原因疾患としては50%がアルツハイマー病で、15%はレビー小体病（パーキンソン病を含む）である。米国では抗体医薬であるアデュカヌマブが上市され、いよいよアルツハイマー病の疾患修飾治療薬の開発が始まった。私は1982年脳のCa<sup>2+</sup>/カルモデュリン依存性プロテインキナーゼII（CaMKII）を発見した。1992年には米国で利根川進博士らがCaMKIIが齧歯類の脳で記憶を作る酵素であること、私は記憶に関連するスパイン形成にCaMKIIが関与することを証明した。これらの事実からCaMKII活性を高めることで認知症を克服できるという構想を抱いてきた。その後、CaMKIIの活性化を指標にして、記憶を改善する低分子化合物をスクリーニングした。2013年に間接的ではあるが、CaMKIIを活性化する低分子化合物SAK3を創製した。SAK3はT型カルシウムチャネルを活性化して、アセチルコリンとグルタミン酸の神経伝達を促進することで認知機能を高める化合物である。T型カルシウムチャネルは海馬の神経幹細胞に高発現している。SAK3は神経新生を促進することにより、動物実験でうつ様行動を改善する。アルツハイマー病マウス脳では原因タンパク質であるβアミロイド凝集体がタンパク質分解装置であるプロテアソームを阻害することで、異常タンパク質の分解が障害されている。プロテアソーム活性には構成サブユニットRpt-6のCaMKIIによるリン酸化反応が必要である。私達はアルツハイマー病マウス脳で低下したプロテアソームの活性がSAK3投与により回復することを明らかにした。実際に、プロテアソームの活性化によりアミロイドプラークの分解が促進された。このように、SAK3は神経伝達遊離と神経新生を促進することでアルツハイマー病マウスの認知機能とうつ症状を改善した。さらに、アミロイドプラーク分解の促進により認知症の進行を抑制することが期待できる。新しいタイプの疾患修飾治療薬である。現在、アカデミア発シーズの製薬企業への導出は極めて困難である。その理由としては画期的な作用機序と化学構造を持つFirst-In-Classの薬でなければ大企業への導出は無理である。しかし、薬理学研究では脳機能改善を目標とした新薬開発、既存薬のリポジショニングへのチャレンジを続けるべきである。本講演では、高齢化社会を迎える我が国における認知症疾患修飾治療薬の開発状況を紹介して、アカデミア発シーズの臨床開発の将来性を議論したい。

## 前頭側頭型変性症で認めるアストロサイト様構造物に対するアミロイド・タウPETプローブの結合性評価

○横山 裕香<sup>1</sup>、原田 龍一<sup>1</sup>、荒井 啓行<sup>2</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、古本 祥三<sup>3</sup>、岡本 信行<sup>4</sup>、谷内 一彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・機能薬理学分野、<sup>2</sup>東北大・加齢医学研究所・認知症治療医薬開発寄付研究部門、<sup>3</sup>東北大・院薬・サイクロトロンRIセンター、<sup>4</sup>東北医科薬科大・医・薬理学

**【背景】** アルツハイマー型認知症(AD)、前頭側頭型変性症(FTLD)などの神経変性疾患では神経の脱落の他にアミロイド、タウ、TDP-43といったミスフォールディングタンパク質が蓄積している。ミスフォールディングタンパク質は $\beta$ シートが規則正しく並んだクロス $\beta$ 構造と呼ばれる化合物で染色される特徴などがある。従来これらは死後の剖検脳によってでしか検出することが出来なかったが、近年、陽電子断層撮影法(PET)を用いることでアミロイド・タウなどのミスフォールディングタンパク質の蓄積を画像化出来るようになった。近年、TDP-43が蓄積する前頭側頭型変性症(FTLD-TDP)の一部の症例においてクロス $\beta$ リガンドのチオフラビンS(ThS)で染色されるTDP-43とは異なるアストロサイト様構造物が報告された。クロス $\beta$ リガンドを基に開発されたアミロイド・タウPETプローブはThS陽性アストロサイト様構造物と結合し、PET検査が偽陽性になる可能性がある。そこで本研究ではアミロイド・タウPETプローブのThS陽性アストロサイト様構造物に対する結合性を明らかにすることを目的とした。

**【方法】** ThS陽性アストロサイトを認めたFTLD-TDP-Aのパラフィン脳切片を用いてアミロイドPETプローブ<sup>3</sup>H-PiBとタウPETプローブ<sup>18</sup>F-THK5351、<sup>18</sup>F-Flortaucipirを用いてIn vitroオートラジオグラフィーを行った。

**【結果】** <sup>3</sup>H-PiBはADでは灰白質にびまん性の集積を認めたのに対し、FTLD-TDP-Aでは灰白質に集積は認めなかった。一方、<sup>3</sup>H-THK5351、<sup>18</sup>F-FlortaucipirはADの灰白質にラミナー状の集積を認めたのに対し、FTLD-TDP-Aでは灰白質にびまん性の集積が認められた。

**【結論】** ThS陽性アストロサイトを認めたFTLD-TDP-A症例はアミロイドPETが偽陽性になる可能性は低いと考えられる。<sup>3</sup>H-THK5351、<sup>18</sup>F-Flortaucipirはいずれもモノアミン酸化酵素へのオフターゲット結合が認められるタウPET薬剤であることからさらなる検証が必要と考えられる。

## 自然発症アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた新規電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネル拮抗薬の鎮痒作用の解析

○松田 康佑<sup>1</sup>、澤幡 雅仁<sup>2</sup>、久米 利明<sup>2</sup>、歌 大介<sup>2</sup>

<sup>1</sup>富山大・院医薬・薬理、<sup>2</sup>富山大・学術薬和漢・薬理

**【背景】** アトピー性皮膚炎（AD）をはじめとした慢性掻痒疾患の多くは難治性掻痒であり、患者のQOLを著しく低下させる。また、掻痒は疼痛と似たメカニズムを有しているが、慢性化のメカニズムは未だ不明な部分が多い。特に慢性掻痒疾患には有効な治療薬が存在せず、新規治療薬の探索が急務である。そこで本研究では、自然発症ADモデルマウスを用いて、現在、末梢性神経障害性疼痛の治療に使用されている新規電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネル拮抗薬であるミロガバリンに注目し、その鎮痒作用について行動薬理的な解析を行った。

**【方法】** 実験には雄性NC/Nga（NC）マウスを用いた。ADモデルはNCマウスにダニを定着させ通常環境（conventional: CV）下で飼育することにより作製した。また、微生物制御環境（specific pathogen free: SPF）下で飼育したNCマウスを健常マウスとした。マウスの自発的掻き動作はSCLABA®-Nextを用い定量的に解析を行った。

**【結果】** CV環境下で飼育したADモデルマウスはSPF環境下で飼育した健常マウスに比べ顕著に自発的掻き動作が増加した。このADモデルマウスにミロガバリン（10 mg/kg）を経口投与したところ、その自発的掻き動作は溶媒投与群に比べ有意に抑制された。また、ミロガバリン投与による運動機能への影響を検討するために、健常マウスを用いrotarod testおよびwheel cage testにより運動機能を評価した。その結果、ミロガバリン投与による運動機能の低下は観察されなかった。

**【考察】** これらの結果より、ミロガバリンがADによる慢性掻痒に対し有効な治療薬になりうることが示された。また、ミロガバリンの作用部位が脊髄後角のシナプス前終末部であることが示唆されているため、今後ミロガバリンの作用機序を解明することで慢性掻痒のメカニズムの解明に寄与する可能性がある。

## 葛藤行動試験系の構築と抗不安薬投与による影響

○宮上 祐里佳<sup>1</sup>、南 雅文<sup>1</sup>、人羅 菜津子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北海道大・院薬・薬理学研究室、<sup>2</sup>熊本大・院生命科学

動物にとって、報酬刺激と嫌悪刺激が共存する葛藤環境での行動選択は生存に重要である。しかし、過去の研究の多くは報酬刺激あるいは嫌悪刺激のみを与えているため、葛藤環境での行動選択を制御する神経回路機構は明らかになっていない。そこで私たちは、葛藤行動を観察するための新たな試験系を作成した。

待機場所であるスタートエリア、続くトランジションエリア、床がグリッドになったグリッドエリアで構成された実験環境のうち、グリッドエリアで砂糖水を得られることを学習させた。その後、マウスがグリッドエリアに入った際に電気ショックを与えることで、砂糖水を得るためには、電気ショックを受ける可能性があることを学習させた（葛藤条件づけ）。これにより、条件づけ前と比べて、マウスが砂糖水に接近するまでの時間（報酬潜時）が延長した。また、各エリア間を移動する回数（移動回数）について解析した。スタートエリアとトランジションエリア間の移動は接近行動を開始するか否かの葛藤を、トランジションエリアとグリッドエリア間の移動はいつ、どのように報酬に接近するかの葛藤を反映していると考えられるが、いずれも増加した。こうした指標の変化は、齧歯類で葛藤寛解効果が既に報告されている抗不安薬を投与することにより、阻害された。

以上のように、作成した試験系を用いて、マウスの葛藤行動を観察することができた。今後は、この試験系と *in vivo* 神経活動記録法などを組み合わせることにより、葛藤行動を制御する神経回路機構を解明していきたい。

## アストロサイトのドパミン受容体とアドレナリン受容体を介したドパミンによるIL-6の転写促進と突起形成誘導効果

○森本 康平、大内 舞、北野 泰佑、江口 遼太、乙黒 兼一

北海道大・院獣医

**【目的】** アストロサイトのサイトカイン産生や突起形態は中枢神経系の生理的機能や病態形成に関与し、以前本研究室ではアドレナリン受容体(AR)を介したアストロサイトのIL-6転写や突起形成の制御機構を明らかにした。ドパミン(DA)はDA受容体(DR)だけでなく、高濃度でARにも親和性があるが、DAによるIL-6転写や突起形成に対する効果は不明である。本研究ではそれらに対する、DAの濃度依存的な効果を調べ、関与する受容体サブタイプや細胞内メカニズムを明らかにすることを目的とした。

**【方法】** 新生ラット由来の大脳皮質および海馬培養アストロサイト、幼若ラットの急性海馬スライスを用いた。培養アストロサイトのIL-6 mRNAをリアルタイムPCR法で、CREBのリン酸化をウェスタンブロット法で測定した。アストロサイトの形態を培養アストロサイトのF-actin染色と、急性海馬スライスのGFAP免疫染色で評価した。

**【結果】** DAは濃度依存的にIL-6 mRNAを増加させた。低濃度(1  $\mu$  M)および高濃度DA(100  $\mu$  M)は、CREBのリン酸化を伴ってIL-6 mRNAを増加させ、これらの作用はそれぞれ、D1様DR拮抗薬および $\beta$ -AR拮抗薬で抑制された。さらに高濃度DAによるIL-6 mRNAの増加は、D2様DR拮抗薬で増強された。また、高濃度DAおよび非選択的D1様DR作動薬は突起形成を誘導した。高濃度DAによる突起形成誘導は $\beta$ -AR拮抗薬で抑制され、 $\alpha_2$ -AR拮抗薬およびD2様DR拮抗薬で増強された。アデニル酸シクラーゼ(AC)活性化薬およびAC選択的D1様DR作動薬は、CREBのリン酸化を伴ってIL-6 mRNAを増加させ、突起形成を誘導したが、ホスホリパーゼC選択的D1様DR作動薬は影響を与えなかった。急性海馬スライスでは、DA、非選択的D1様DR作動薬および $\beta$ -AR作動薬により、突起の数や長さ、およびGFAP発現が増加した。

**【考察】** 低濃度DAはD1様DRを介してIL-6転写を促進する一方、高濃度DAは主に $\beta$ -ARを介してIL-6転写を促進し、突起形成を誘導した。またDAによるIL-6転写の促進には、cAMPの増加によるCREBのリン酸化の関与が示唆された。さらにD1様DRと $\beta$ -ARは増強的に、D2様DRと $\alpha_2$ -ARは抑制的に作用するという双方向の制御が明らかになった。

## 脳内アミロイド・タウを生体画像化するための近赤外線蛍光プローブTHK565の性能評価

○村田 大樹<sup>1</sup>、井上 まり絵<sup>1</sup>、長沼 史登<sup>1</sup>、中村 正帆<sup>1</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、岡村 信行<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・医・薬理、<sup>2</sup>東北大・加齢研・認知症治療医薬開発

脳内でのアミロイド $\beta$  ( $A\beta$ ) やタウタンパク質の過剰な蓄積はアルツハイマー病の病因と考えられており、その蓄積は症状の進行に先行する。近年アルツハイマー病の治療薬として脳内 $A\beta$ を減少させる抗 $A\beta$ 抗体が米国で承認されたこともあり、脳内に蓄積した $A\beta$ のin vivo検出法の確立は重要性を増している。アミロイドPETなどの核医学的手法はコスト面や設備面などの課題が多く、その代用として、近赤外線蛍光プローブを用いたin vivoイメージングが注目されている。そこで本研究では、 $A\beta$ やタウに結合し、波長650 nm以上の近赤外領域の蛍光を発する新規蛍光プローブとして開発されたTHK565の性能評価を行った。

THK565のin vivoでの $A\beta$ およびタウタンパク質検出能を調べるために、ヒト型の $A\beta$ が蓄積するAPP-KIマウスと、P301変異をもつヒトタウタンパク質が過剰産生されるrTg4510マウスを用いた。これらのマウスにTHK565 (0.3 mg/kg) を尾静脈から静脈内投与後、in vivo蛍光イメージング装置であるIVIS (ParkinElmer, Waltham, MA, USA) を用いて、マウス頭部の蛍光を60分間計測した。得られた画像の蛍光強度の経時的変化(0-60分)をAPP-KIマウス群と同齢の野生型マウス群間、およびrTg4510マウス群と同齢の野生型マウス群間でそれぞれ比較検討した。さらに60分間の撮影後にマウスの脳を摘出し、ex vivoでも蛍光を測定した。

APP-KIマウス群では、野生型マウス群よりも頭部の蛍光強度が有意に増加した。ex vivoでのマウス脳の蛍光強度もin vivoでの計測結果と同様であった。またrTg4510マウス群の蛍光強度も野生型に比べて有意に増強した。rTg4510マウス群と野生型群の蛍光強度の差は投与直後が最大で、時間経過に伴って差が縮小した。以上の結果から、THK565は生体内の $A\beta$ 病変およびタウタンパク質病変の非侵襲的検出で使用可能な蛍光イメージングプローブの有力候補であると考えられた。



上皮成長因子による脊髄培養細胞のシスタチオンin  $\beta$ -合成酵素発現制御機構

○江口 遼太、東田 有矢、大内 瑞城、山口 聡一郎、乙黒 兼一

北海道大・院獣医・薬理

【背景・目的】シスタチオンin  $\beta$ -合成酵素 (CBS) は、細胞毒性をもつホモシステインを分解し、細胞保護作用をもつ硫化水素を産生する。中枢神経系においてCBSはアストロサイトに局在し、ホモシステインの分解や硫化水素産生によって病態や生理機能に関与すると考えられている。CBS発現は胎生期には低く、出生後に上昇すると報告されているが、アストロサイトにおけるCBS発現の制御機構は明らかになっていない。上皮成長因子 (EGF) は、中枢神経系細胞の分化・成熟の重要な制御因子であり、神経幹細胞のアストロサイトへの分化を促すことも知られている。そこで本研究では、EGFが胎生期の脊髄培養細胞のCBS発現をどのように制御するか検討した。【方法】胎齢16日のラットの脊髄細胞を培養し、EGFを処置した。CBSの発現はウェスタンブロット法で測定した。また、免疫細胞染色法によりCBSを発現する細胞種を特定した。【結果】EGF処置 (30 ng/ml、4 days) は、脊髄培養細胞におけるCBS発現を有意に増強した。CBS発現増強は主にアストロサイトで見られるとともに、EGFは細胞増殖を促してアストロサイトの数も増加させた。また、細胞増殖抑制剤のAraC存在下でも、EGFはCBS発現を増強した。さらに、EGF受容体 (EGFR) 阻害薬は、EGFによるCBS発現増強と細胞増殖を抑制した。EGFRは主に神経幹細胞に発現することが確かめられ、EGFはEGFR発現細胞数も増加させた。一方AraC存在下で細胞増殖を抑制すると、EGFはEGFR発現を有意に低下させた。

【総括】脊髄培養細胞において、EGFはCBS発現アストロサイトを増加させることが示された。また、EGFは主に神経幹細胞に作用し、その増殖を促すとともに、CBSを発現するアストロサイトへの分化を促進することが示唆された。このようなEGFによるアストロサイトのCBS発現制御メカニズムが、脊髄の発達および成熟に重要な役割を果たす可能性がある。

## Mirror image pain 発現機構におけるアストロサイトの関与

○渡辺 千寿子、善積 克、櫻田 忍、溝口 広一

東北医科薬科大・薬

**【背景・目的】** 神経障害性疼痛あるいは炎症性疼痛の発現時において、障害を受けた側の対側部位に自発痛（刺激を加えていないのに感じる痛み）、アロディニア（通常は痛みとして感じない刺激を痛みとして感じる状態）、痛覚過敏（弱い刺激に対して通常以上の痛み感覚を示す状態）を発現することが報告されており、この現象はMirror image painと称されている。原因疾患による痛みによってさらなる痛みを発現するという悪循環により患者のQOLが著しく低下することから、その発現機構を解明することが急務となっている。本研究では、Mirror image painの発現機構を解明するため、痛みの慢性化・難治化に関与しているとされるアストロサイトに着目し検討を行なった。

**【実験方法】** 起炎物質であるComplete Freund's adjuvant (CFA)を、マウスの左後肢足蹠内へ投与することによりMirror image painモデルを作成し、von Frey filament法を用いて疼痛閾値の変化を測定した。

**【結果・考察】** CFA投与側では投与直後から有意な疼痛閾値の低下が確認され、さらに非投与側においてもCFA投与2日目以降から数日間に渡り有意な疼痛閾値の低下、すなわちMirror image painの発現が認められた。Mirror image painが最も強く発現したCFA投与5日目にアストロサイト抑制薬およびインターロイキン-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 抗体を脊髄クモ膜下腔内へ投与したところ、有意な抑制効果が認められた。以上の結果から、Mirror image painの発現にはアストロサイトの活性化およびIL-1 $\beta$ の遊離が関与していることが示唆された。

## Cholecystokinin-8脊髄腔内投与による疼痛関連行動におけるSubstance Pおよびhemokinin-1の関与

○林 貴史<sup>1</sup>、我妻 恭行<sup>1</sup>、櫻田 司<sup>2</sup>、櫻田 忍<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・薬・薬剤、<sup>2</sup>第一薬科大・薬、<sup>3</sup>東北医科薬科大・薬

**【目的】** Cholecystokinin-8 (CCK-8) は、脊髄後角において疼痛伝達に関与している神経伝達物質の一つである。CCK-8をマウス脊髄クモ膜下腔内 (i.t.) に投与すると、下腹部、下肢および尾部へのscratching、bitingおよびlickingといった疼痛関連行動 (SBL行動) が発現し、CCK-8の濃度によって、2つの作用ピークを有する用量-反応曲線を示した。この2つの作用ピーク濃度におけるCCK-8の作用機構について、特に、疼痛伝達に重要な役割を果たしているTachykinin NK<sub>1</sub>受容体への関与について検討した。

**【方法】** 実験には、ddY系雄性マウス (20-24 g) を使用した。マウスを測定環境に順化させた後、Hyldenらの方法により薬物をi.t.投与した。CCK-8をi.t.投与した直後から発現するSBL行動の持続時間 (秒) を30分間、計測した。

**【結果】** CCK-8をi.t.投与すると、SBL行動は、CCK-8の濃度が10 amolと10 pmolをピークとするbell-shape型に発現した。NK<sub>1</sub>受容体拮抗薬であるCP99994ならびにsendide、および抗Substance P抗体は、CCK-8、10 amolのi.t.投与によるSBL行動には影響を示さなかったが、CCK-8、10 pmolのi.t.投与によるSBL行動を用量依存的に減弱した。抗hemokinin-1抗体は、CCK-8、10 amolおよび10 pmolのi.t.投与によるSBL行動を希釈濃度依存的に減弱した。

**【考察】** CCK-8、10 pmolのi.t.投与によるSBL行動は、NK<sub>1</sub>受容体拮抗薬によって減弱し、さらに抗Substance P抗体および抗hemokinin-1抗体によって減弱したことから、脊髄においてCCK-8は、何らかの形でSubstance Pおよびhemokinin-1を遊離し、それらがNK<sub>1</sub>受容体に作用することによって疼痛関連行動を発現していることが示唆された。さらに、抗hemokinin-1抗体は、CCK-8、10 amolにおいても、SBL行動を有意に減弱させたことから、hemokinin-1がNK<sub>1</sub>受容体を介さない、別の作用を有していることが示された。

## 血管平滑筋細胞の炎症に対する時計遺伝子BMAL1の関与

○高栗 郷、石坂 怜菜、佐々木 倫士、佐藤 久美

北海道科学大・薬・薬理

**【目的】** ドキソルビシンによる副作用として、静脈炎、すなわち血管の炎症が知られている。時計遺伝子BMAL1は、様々なシグナル分子の発現や機能に影響を及ぼすことが知られているが、血管の炎症に対する影響については不明である。そこで本研究では、ドキソルビシンにより誘発される炎症におけるBMAL1の役割とそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

**【方法】** ラット胸部大動脈より単離した血管平滑筋細胞を用いて、siRNAによりBMAL1をノックダウンし、細胞生存率をMTSアッセイ、各種mRNA発現をリアルタイムPCR、およびタンパク質の発現をウエスタンブロットリング法により検討した。

**【結果】** ドキソルビシン(0.5  $\mu$ M)は、細胞毒性を示さずに炎症性サイトカインであるinterleukin (IL)-6のmRNA発現、BMAL1のmRNAおよびタンパク質発現を有意に増加させた。一方、BMAL1のノックダウンは、細胞生存率を有意に減少させ、IL-6のmRNA発現を有意に増加させた。BMAL1のノックダウン下では、ドキソルビシンによるIL-6のmRNA発現をさらに亢進させた。また、BMAL1のノックダウンにより、炎症性サイトカインの発現を抑制するNrf2のmRNAおよびタンパク質発現が有意に増加した。さらに、BMAL1のノックダウンは、Nox4のmRNA発現の増加およびp38 MAPKの発現増加に伴うリン酸化を亢進させた。p38MAPK阻害剤SB203580の前処理は、BMAL1のノックダウンによるIL-6のmRNA発現の増加を有意に抑制した。

**【考察】** 以上の結果より、BMAL1の発現低下は、ドキソルビシンによる血管の炎症が増強することが示され、BMAL1のノックダウンによるp38MAPKの活性化が炎症を生むメカニズムであることが明らかになった。したがって、BMAL1の発現低下時におけるドキソルビシン投与は、炎症の副作用発現が高まる可能性が示唆される。

## ラット心筋細胞において、Pdc1はmTOR阻害を介したオートファジー誘導によりドキシソルビシン誘発アポトーシスを抑制する

○菅野 秀一、蓬田 伸、原 明義

東北医科薬科大・薬・薬物治療

【目的】 アントラサイクリン系抗悪性腫瘍薬であるドキシソルビシン (DOX) は、乳がんや胃がん、悪性リンパ腫などの治療に幅広く使用されている。その反面、心臓に不可逆的な傷害を惹起することが知られている。先に我々は、DOXを投与したマウスの血中およびラット心臓由来H9c2細胞ではProgrammed Cell Death 1 (Pdc1) 遺伝子の発現が増大すること、さらにPdc1がオートファジーを誘導することでDOX誘発アポトーシスを抑制することを報告した (第71回日本薬理学会北部会)。今回、Pdc1のオートファジー発現機構をH9c2細胞を用いて解析した。

【方法】 実験には、常法によりD-MEM培地にて継代培養したH9c2細胞を使用した。Pdc1過剰発現細胞は、プラスミドベクターを構築して細胞へのトランスフェクションにより作製した。アポトーシスの発現は、核内クロマチンの凝集と細胞膜表面に露出されるホスファチジルセリンの程度を指標として測定した。mTORとその活性化体であるリン酸化タンパク質は、免疫蛍光染色法とWestern blotting法により検出した。オートファジーの発現は、蛍光試薬DAL GreenとオートファジーのマーカーであるLC3 II Bを用いて検出し、LC3 HiBiTレポーター導入H9c2細胞を樹立して解析を行った。

【結果および考察】 DOX非存在下において、H9c2細胞にPdc1を導入したH9c2/Pdc1では、遺伝子導入のネガティブコントロールであるH9c2/Mockに比較して、オートファジーの誘導を負に制御する活性化mTORタンパク質の発現が78.4%に低下した。さらに、H9c2/Pdc1ではオートファジーの誘導に関連するAtg3、Atg5およびBeclin-1の発現が有意に増大したが、アポトーシス関連タンパク質の変動は認められなかった。Pdc1とmTOR阻害薬であるRapamycinによるオートファジー誘導は、いずれもBafilomycin A1 (vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase阻害薬)により抑制された。一方、ヒトがん細胞株 (MCF-7、K562) にPdc1を発現導入すると、H9c2細胞とは逆にDOXによるアポトーシスが增大したことより、Pdc1はがん細胞においてDOX誘発アポトーシスを促進するのに対し、心筋細胞では抑制することが示唆された。これらの結果、DOXに対するPdc1の心筋細胞保護作用には、mTOR阻害を介したオートファジー誘導が関与すると考えられる。

## SIRT1はヒストンH2AXを脱アセチル化することによりドキソルビシンによる心筋細胞障害に対して保護的に作用する

○久野 篤史、細田 隆介、多田 幸平、谷口 祥貴

札幌医科大・医

背景・目的：損傷DNAの蓄積がドキソルビシン (DOX) 誘導性心筋障害に関与することが示唆されている。我々はヒストン脱アセチル化酵素であるSIRT1がDOX心筋障害に対して保護的に作用することを見出したが、そのメカニズムは不明である。本研究は、SIRT1がDNA損傷反応に重要な役割を果たすH2AXを脱アセチル化してDOX心筋障害に対して保護的に作用するかを検討した。

方法・結果：心筋細胞特異的SIRT1ノックアウトマウス (SIRT1 cKO) と野生型マウス (WT) へDOX (5 mg/kgを7日毎に4回腹腔内) またはvehicleを投与した。最終投与の1週後の心エコーでは、WTと比較してSIRT1 cKOでDOXによる左室短縮率の低下はより顕著で、かつ心筋組織においてDOXによるTUNEL陽性細胞の増加もより強く、SIRT1 cKOでDOX心筋障害やDNA損傷がより高度と考えられた。DNA損傷反応として重要なH2AX-セリン139リン酸化のレベルがWTではvehicle群と比較してDOX群で1.6倍増加したが、SIRT1 cKOではDOXによる増加がみられなかった。また免疫染色ではH2AX-リジン5アセチル化レベルがSIRT1 cKOで増加していた。

H9c2心筋細胞においてもcometアッセイで評価した損傷DNAレベルやimmunoblot法によるcleaved caspase-3量のDOXによる増加は、SIRT1ノックダウンでより亢進した。一方SIRT1のノックダウンによりDOXによるH2AX-セリン139リン酸化反応が減弱した。H2AX-リジン5アセチル化レベルは、SIRT1ノックダウンで増加、SIRT1の過剰発現で低下した。H2AX-リジン5アセチル化の役割を評価するため、リジン5をグルタミンに置換してアセチル化を模倣するK5Q変異体H2AXを作成した。野生型H2AXと比較してK5Q-H2AX発現細胞ではDOXによるセリン139リン酸化の減弱やcleaved caspase 3増加の亢進が見られた。

結論：SIRT1抑制によるH2AX-リジン5アセチル化の増加は、セリン139リン酸化反応を阻害し損傷DNAの蓄積や細胞死を促進して心筋細胞障害をもたらす。そのようなDNA損傷反応の調節がSIRT1によるDOX心筋障害に対する保護メカニズムであると考えられた。

## ヒト脳微小血管内皮細胞の自然免疫誘発に対するヤマブドウ成分の抑制作用

劉 旭<sup>1</sup>、今泉 忠淳<sup>2</sup>、○于 在強<sup>1</sup>、大徳 和之<sup>1</sup>、皆川 正仁<sup>1</sup>、菊地 晴久<sup>3</sup>、大島 吉輝<sup>4</sup>、元村 成<sup>5</sup>、古川 賢一<sup>6</sup>、瀬谷 和彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>弘前大・院医・胸部心臓血管外科学、<sup>2</sup>弘前大・院医・脳血管病態学、<sup>3</sup>慶應義塾大・薬・天然医薬資源学、<sup>4</sup>東北大・院医・薬・医薬資源化学分野、<sup>5</sup>弘前大・院医・病態薬理学、<sup>6</sup>弘前大・院医・整形外科

**【背景及び目的】**血液脳関門を構成するヒト脳微小血管内皮細胞（hCMEC）は自然免疫調節機能を有し、細菌やウイルスの侵入を防ぐことが知られている。感染によりパターン認識受容体（PRR）が活性化され、炎症性サイトカインが産生されるが、これらが過剰に起こると自己炎症性疾患を誘発する。本研究では、過剰産生を抑える薬物の開発を目的とし、ワインの原料であるヤマブドウ成分の、ウイルスRNAを模倣した二本鎖RNAアナログ、poly ICによる自然免疫誘発に対する抑制効果を調べた。

**【方法】**hCMEC/D3細胞を用い、4種のアムブドウ成分共存下で poly IC (1-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を加え、インターフェロン $\beta$  (IFN- $\beta$ ) やCXCL10産生に対する抑制効果を調べた。炎症性サイトカイン等のmRNA発現変化はqPCR法、タンパク質発現はwestern blotまたはELISA法を用いて調べた。

**【結果】**Poly IC添加は、白血球の化学遊走を促すケモカイン、CXCL10のmRNA発現を無処理と比較して約2000倍亢進した。これに対し、ヤマブドウ成分4種のうち(+)-hopeaphenol (1-10  $\mu\text{M}$ ) のみがCXCL10発現を濃度依存性に抑制した。(+)-Hopeaphenolはpoly IC誘発性IFN- $\beta$  発現亢進をmRNA、タンパク質両方とも有意に抑制した。さらに、PRRの一種、RIG-Iの発現亢進も有意に抑制した。

**【考察】**Poly IC はhCMECにおいてTLR3を活性化することで自然免疫を誘発することが知られている。今回得られた結果は、TLR3によって誘発されたIFN- $\beta$  産生及び、IFN受容体を介したCXCL10やRIG-I発現亢進を(+)-hopeaphenolが抑制することを強く示唆している。今後は、(+)-hopeaphenolの作用機構についてさらに検証を加えていく所存である。

## 間質性膀胱炎/膀胱痛症候群におけるガバペンチノイドの治療機序

○善積 克、渡辺 千寿子、溝口 広一

東北医科薬科大・薬・機能形態

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群 (IC/BPS) は、原因が特定できない排尿症状 (頻尿、尿意切迫感) を伴う骨盤・膀胱内の疼痛が持続する泌尿器科領域で唯一難病指定された慢性炎症疾患である。排尿に関する症状は、過活動膀胱 (OAB) と類似した下部尿路症状を有しながら、OAB治療薬にも抵抗性を示すため適応可能な治療薬がないのが現状である。そこで我々は、グラム陰性菌内毒素であるリポポリサッカライド (LPS) を膀胱内に繰り返し注入することで、IC/BPSの主症状である膀胱痛と頻尿を持続的に長期観察できる慢性膀胱炎モデルラットを確立した。さらに本モデルラットにおいて、神経障害性疼痛治療薬であるガバペンチンが膀胱痛に対して鎮痛効果を示すだけでなく、排尿機能においても改善効果を示すことを明らかにした。しかし、そのメカニズムについては未だ未解明な部分が多いため、本研究では、IC/BPSの膀胱痛と頻尿に対するガバペンチンの中枢性治療メカニズムの解明を試みた。

本モデルでは、雌性Sprague-Dawleyラットの膀胱内にLPS (0.5 mg/0.5 ml) を繰り返し投与することで膀胱組織に炎症所見や線維化の進行がみられ、尿道周囲下腹部への機械刺激による疼痛閾値の低下と排尿間隔の短縮が長期的に観察された。ガバペンチンは、プレガバリンやミロガバリンと共にガバペンチノイドに分類され、電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルの $\alpha_2\delta$ サブユニットに結合することで、神経伝達物質の放出を制御し、鎮痛効果を示すことが知られている。本モデルラットで生じる膀胱痛に対して、ガバペンチン (10-100  $\mu$ g) の脳室内および脊髄腔内投与は、それぞれ用量依存的な鎮痛効果を示した。排尿機能においては、ガバペンチン (10-100  $\mu$ g) の脳室内投与により30および100  $\mu$ gで有意な排尿間隔の延長がみられ、脊髄腔内投与では100  $\mu$ gのみ有意な排尿間隔の延長がみられたが、その効果は脊髄腔内投与よりも脳室内投与で顕著であった。

以上の結果から、IC/BPSモデルラットの膀胱痛におけるガバペンチンの効果は、脊髄腔内および脳室内投与によって鎮痛効果を示したことから、従来から作用部位として報告されている脊髄または青斑核ノルアドレナリン作動性神経を介した下行性抑制系の活性化に基づくものと考えられる。排尿機能におけるガバペンチンの効果は、脊髄よりも上位中枢に対するメカニズムに起因している可能性があるが、詳細は今後更なる検討が必要である。



## CDK8/19阻害薬によるマクロファージの機能修飾

○志賀 咲紀、水野 夏実、柳川 芳毅

北海道医療大・薬・薬理学

マクロファージは、炎症反応の誘導と収束および組織修復反応において重要な役割を担っており、主に炎症促進型のM1マクロファージと組織修復型のM2マクロファージに大別される。M1マクロファージはIFN- $\gamma$ などにより誘導され、TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインを産生することで炎症を促進する。一方、M2マクロファージはIL-4などにより誘導され、抗炎症性サイトカインなどを介して組織修復に関与する。近年、免疫関連疾患などの分野においてサイクリン依存性キナーゼ8（CDK8）およびCDK19の阻害薬による免疫調節作用が注目されている。制御性T細胞（Treg）は免疫機能を抑制する機能を有し、免疫寛容や免疫恒常性の維持に重要な役割を果たしている。CDK8/19はTregを誘導することが明らかとなり、自己免疫疾患などの免疫関連疾患の治療に応用し得ると期待されているが、マクロファージへの影響はほとんど明らかにされていない。そこで本研究ではマクロファージに及ぼすCDK8/19阻害薬の影響について解析する。

実験にはマウスマクロファージ細胞株であるRAW264.7を使用した。CDK8/19阻害薬には、BRD6989を使用した。BRD6989で2時間前処理後に、IFN- $\gamma$ （40 ng/mL）でマクロファージの活性化を行った。IFN- $\gamma$ 刺激24時間後にM2マクロファージのマーカであるアルギナーゼ-1（Arg-1）mRNA発現をリアルタイムRT-PCR法により解析し、72時間後にArg-1タンパク質発現をウェスタンブロッティング法により解析した。

結果としてBRD6989前処理はIFN- $\gamma$ 処理24時間後においてArg-1 mRNA発現を増加させた。また、BRD6989前処理はIFN- $\gamma$ 処理72時間後においても同様にArg-1タンパク質発現を増加させた。これらの結果からBRD6989はIFN- $\gamma$ 存在下で抗炎症性のM2マクロファージを誘導することが示唆された。M2マクロファージはさらにいくつかのサブタイプに分類される。M2aはインスリン様増殖因子-1などの組織修復因子の産生を促進し、M2bはTreg誘導に関与、M2cはTregとのクロストークにより組織修復を促進する。以上を踏まえ、本実験で得られた知見から、今後はマクロファージにおけるTreg誘導能および組織修復能について詳細に解析を進める予定である。

## 吸入麻酔薬がニューロテンシン神経細胞の神経活動に及ぼす影響の検討

○長沼 史登<sup>1</sup>、中村 正帆<sup>1</sup>、Vetrivelan Ramalingam<sup>2</sup>、岡村 信行<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・医・薬理学、<sup>2</sup>ハーバード大学・医・神経学部門

視床下部外側 (lateral hypothalamus: LH) は睡眠覚醒制御に重要な脳部位であり、オレキシン神経細胞やメラニン凝集ホルモン神経細胞など、睡眠覚醒サイクルに関わる複数の神経細胞群が局在している。近年我々は、LHに存在するニューロテンシン (Nts) 神経細胞 (Nts<sup>LH</sup>) に着目し、これが睡眠覚醒の制御に関与しているか検討してきた。化学遺伝学的手法および光遺伝学的手法を用いてNts<sup>LH</sup>を特異的に活性化すると、マウスはNREM睡眠から覚醒に速やかに移行し、その後覚醒が維持されることが明らかになった (F Naganuma et al., *PLoS Biol.* 2019)。また、生理的な睡眠覚醒サイクルにおいて、Nts<sup>LH</sup>の神経活動がどのように変化しているかファイバーフォトメトリーを用いたin vivoカルシウムイメージングにより検討したところ、NREM睡眠から覚醒への移行と同時にNts<sup>LH</sup>が強く活性化し、この興奮は覚醒中持続することが明らかになった。これらの結果は、Nts<sup>LH</sup>がNREM睡眠から覚醒への移行と維持を担う主要な神経系であることを明確に示している。吸入麻酔薬の薬理作用には不明な点が多く残されているが、吸入麻酔による意識消失の際に観察される脳波は、NREM睡眠時のそれと酷似することが知られている (Brown EN et al., *N Engl J Med.* 2010)。そこで我々は、Nts<sup>LH</sup>の覚醒移行・維持機構が吸入麻酔の回復期において重要な役割を果たしていると仮説を立てた。これを検証するために、まずファイバーフォトメトリーで、吸入麻酔下におけるNts<sup>LH</sup>の発火パターンを明確にする。次に、光遺伝学的手法を用いてNts<sup>LH</sup>の神経活動を特異的に制御し、吸入麻酔下のマウスの覚醒がどのように変化するかを検証する。これらは、吸入麻酔薬の意識消失の作用機序を理解する上で重要な基盤になると考えられる。

## 低酸素環境におけるヒト肝細胞癌細胞株に対するLenvatinib抵抗性機序の解明

○高橋 将典<sup>1,3</sup>、岡田 浩司<sup>2,3</sup>、大内 竜介<sup>2,3</sup>、金野 太亮<sup>2,3</sup>、薄井 健介<sup>2,3</sup>、鈴木 裕之<sup>2,3</sup>、小暮 高之<sup>4</sup>、佐藤 麻理<sup>4</sup>、中村 仁<sup>2</sup>、佐藤 賢一<sup>4</sup>、村井 ユリ子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・院薬、<sup>2</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>3</sup>東北医科薬科大学病院・薬剤部、<sup>4</sup>東北医科薬科大学病院・消化器内科

切除不能な肝細胞癌(HCC)に対して第一選択薬であるLenvatinib(LEN)は、しばしば効果が低下するが、その作用機序の一つに腫瘍内低酸素の関与が知られている。今回我々はHCC細胞株PLC/PRF/5(PLC)とHepG2を使用し、低酸素環境におけるLEN抵抗性の機序解明を研究目的とした。低酸素環境がLENへ与える影響を調査するために、通常酸素下でのLEN(+)とLEN(-)、低酸素下でのLEN(+)とLEN(-)の4条件での解析を行った。MTS assayにより低酸素下において特にPLCでLENのIC<sub>50</sub>上昇がみられ、LEN抵抗性を確認した。PLCのmRNAを網羅的に解析し、String ver.11.0によるネットワーク解析によりFibronectin(FN)に関連するシグナルがハブとして同定された。PLCにおける定量PCRによりFNのmRNAの有意な上昇も確認された。低酸素培養の効果確認として低酸素誘導因子(HIF-1 $\alpha$ )のmRNAについても確認したところ低酸素下で有意な上昇がみられた。蛍光免疫染色によりFN発現量の解析を行ったところ、PLCにおいて低酸素下でのFN発現量上昇を確認したが、HepG2では有意な差は見られず、ELISAでの培養液中FN濃度の解析においても同様にPLCにおける低酸素下でのFN濃度上昇を確認し、HepG2での有意な差は見られなかった。このことから、低酸素下LEN抵抗性にはFN発現量が関連し、PLCはHepG2に比べてその効果が高いことが示唆された。また、LEN抵抗性獲得機序を解明するために細胞内生存シグナルとして知られるERK1/2の活性化体(p-ERK1/2)について経時的に解析を行ったところ、PLCでは24時間で低酸素下における発現上昇を確認し、48時間ではLEN(+)での発現上昇が確認された。HepG2では常に低酸素下LEN(+)において発現上昇がみられた。以上から細胞内でのLEN抵抗性獲得機序としてERK1/2シグナルの関与が示唆された。これまでに、低酸素下ではHIF-1 $\alpha$ が上昇しFNなど細胞外マトリクスの発現量が上昇すること、様々な癌においてFNがERK1/2を上昇させることが報告されているが、HCCの低酸素下LEN抵抗性に関しては報告が無い。今回の我々の結果からHCCにおける低酸素下LEN抵抗性獲得機序の解明に関して重要な知見が得られた。

## 内側視索前野に投射する扁桃体海馬野ニューロンは雄マウスの仔マウスに対する攻撃行動を促進する

○佐藤 圭一郎、南 雅文、天野 大樹

北海道大・院薬・薬理

養育行動は哺乳類幼児の成長、発達に不可欠である。不適切な養育や育児放棄といった幼少期のストレスは、将来の大うつ病や心的外傷後ストレス障害 (PTSD) などの情動障害のリスクを増加させるのみならず、自身が親になった際の養育に深くかかわることが知られている。マウスの内側視索前野 (MPOA) は破壊実験、遺伝子特異的な細胞欠損、神経活動の抑制により養育行動が阻害されることから、養育行動に深く関与していると考えられている脳領域である。MPOAは複数の脳領域から入力を受けていることが報告されているが、MPOAを制御する上流脳領域は明らかではない。

本研究ではMPOAを調節する上流脳領域として扁桃体海馬野 (AHi) に着目した。AHi内のMPOA投射型ニューロンは仔マウスとの社会性行動によって活性化しており、またオキシトシン受容体が密に発現していることから、仔への行動選択に対する寄与が予想される。そこで当該ニューロンの薬理遺伝学的な活性化を行ったところ、仔マウスに対してほとんどが養育を示す父親マウスと養育を示す割合が中間体のモデル (Father ingestion experience; FGEマウス) の両方で、養育行動の発現が阻害された。興味深いことに、父親マウスでは攻撃行動を示す個体の割合が日ごとに減少したが、FGEマウスではこの効果は見られなかった。次にオキシトシンの作用を検討するため、MPOA投射型AHiニューロンに対してホールセルパッチクランプ法による記録を行った。オキシトシンを作用させると、交尾未経験雄マウスと父親マウスの両方で自発的な抑制性シナプス後電流の頻度が増加したが、父親マウスでより大きな頻度の増加がみられた。

本研究では、AHiからMPOAへの入力が雄マウスの仔マウスに対する行動選択を養育行動から攻撃行動へとシフトさせることを明らかにした。加えて、この行動を促進するMPOA投射型AHiニューロンはオキシトシン感受性の抑制性入力を受けていた。以上より、AHiからMPOAへの情報伝達は仔マウスへの攻撃行動を制御するメカニズムの1つであることが明らかになった。

## The use of digitonin for the assessment of the effect of doxorubicin on autophagy flux

佐藤 岳哉<sup>1</sup>、○李 冠傑<sup>2</sup>、戸田 法子<sup>4</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、山内 正憲<sup>4</sup>、谷内 一彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・病態液性制御学分野、<sup>2</sup>東北大・院医・機能薬理学分野、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学分野、<sup>4</sup>東北大・院医・麻酔科学・周術期医学分野

Doxorubicin (Dox) is one of the convincing anti-cancer therapeutic approaches against various tumor cell types. Unfortunately, the use of dox has been hampered due to the life-threatening cardiotoxic damage such as lethal cardiomyopathy it has caused. The mechanism of the toxicity of Dox has been investigated, whereas it remained to be elusive. Autophagy has a role in sustaining cellular homeostasis, and the measurement of autophagic activity is known as an autophagy flux. We have focused on the effect of Dox on autophagic activity. We have previously validated the use of EGFP-tagged LC3B as a specific probe for the quantitative analysis of autophagy. In this study, we further examined the quantitative analysis using this fluorescent probe. Since LC3B has two isoforms, LC3B-I, a soluble form, and LC3B-II, a lipidated form to incorporate into an autophagosome, we thought a proper method like digitonin extraction was necessary to reduce the background signal derived from a soluble EGFP-LC3B-I. After digitonin extraction, we have detected EGFP-LC3B-II positive autophagosomes without a cytoplasmic background signal. We then applied the digitonin extraction to measure the fluorescent intensity of EGFP-LC3B-II in cells using flow cytometry following the Dox treatment. The treatment of the cells with lysosome inhibitors such as chloroquine, and bafilomycin, showed increased EGFP fluorescent intensity compared to that without treatment. Chloroquine and bafilomycin inhibit the fusion process of the autophagosome with a lysosome. Dox also increased EGFP fluorescent intensity. These results suggest that Dox also inhibited the fusion process on autophagy. A combination of the fluorescent protein probe, EGFP-LC3B with digitonin extraction is a simple procedure for the autophagy flux.

## メトトレキサート投与によるラット小腸組織傷害に対するナファモスタットの効果

○山本 隆弘<sup>1</sup>、町田 拓自<sup>1</sup>、丹野 智歩<sup>1</sup>、長谷部 志織<sup>1</sup>、平出 幸子<sup>1</sup>、浜上 尚也<sup>2</sup>、飯塚 健治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大・薬・病態生理学、<sup>2</sup>北海道医療大・薬・衛生薬学

抗がん剤による主要な副作用の1つである消化管粘膜炎は、吸収不良、下痢、悪心・嘔吐など様々な症状を引き起こす。メトトレキサート (MTX) は腸上皮に対する傷害感受性が特に高く、これが臨床使用を制限する要因の1つになることがある。セロトニン (5-HT) は、パラクリン伝達物質、神経伝達物質、炎症性メディエーターとして消化管傷害に深く関与する。我々はこれまでにラットへのMTX連続投与が小腸組織傷害、5-HT動態を亢進させることを報告している。一方、ナファモスタットは、そのセリンプロテアーゼ阻害作用により臨床では膵炎、播種性血管内凝固症候群の治療に用いられている。さらに基礎研究において大腸炎などをナファモスタットが抑制することも報告されている。本研究では、MTX投与によるラット小腸組織傷害及び5-HT動態亢進作用に及ぼすナファモスタット投与の影響を検討した。

9週齢のウィスターラットにMTX (12.5 mg/kg) 及びナファモスタット (1 mg/kg) を24時間毎に4回それぞれ腹腔内投与、皮下投与を行い、初回投与から96時間後に小腸を摘出した。MTX初回投与から24時間ごとに摂餌量、飲水量、体重を計測した。対照群、ナファモスタット単独群、MTX単独群、MTXとナファモスタットの併用群で検討を行った。

ナファモスタット単独投与は、検討したすべての項目で影響を与えなかった。一方、ナファモスタットは、MTX投与による組織傷害スコアの亢進、絨毛長の短縮及び炎症マーカー (ミエロペルオキシダーゼ発現、炎症性サイトカインmRNA発現) の亢進を回復させた。さらにナファモスタットは、MTX投与による小腸5-HT含量の亢進を抑制した。ナファモスタットは、MTX投与による体重減少、摂餌量低下、飲水量低下を有意に回復させた。

ナファモスタットは、MTX投与による小腸組織傷害および小腸5-HT動態の異常を回復させた。このことがMTX投与によるQOL低下を回復させる要因となっていると考えられる。抗がん剤治療の支持療法としてナファモスタットが有効である可能性が示唆された。

## 口腔扁平上皮がんのマウス移植片モデルを用いた抗EGFR抗体の抗腫瘍効果の検討

○七宮 蓮<sup>1</sup>、大石 智一<sup>2</sup>、浅野 禎三<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、鈴木 裕之<sup>3</sup>、金子 美華<sup>1</sup>、川田 学<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬、<sup>2</sup>微化研・沼津、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学分野

(背景) 口腔扁平上皮がんや大腸がんなどの様々な腫瘍で過剰発現している上皮成長因子受容体 (EGFR) は予後の悪化に寄与していることから、治療標的として重要である。以前、我々が開発した抗EGFRモノクローナル抗体であるEMab-134はEGFRの検出に有用である一方で、サブクラスはマウスIgG<sub>1</sub>であり、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性および補体依存性細胞傷害 (CDC) 活性を誘導しない。

(目的) 本研究では、EGFRを過剰発現する口腔扁平上皮がんに対して *in vitro* および *in vivo* で抗腫瘍効果を発揮する抗EGFRモノクローナル抗体の開発を目指した。

(方法) ADCC活性およびCDC活性を誘導するために、抗EGFRモノクローナル抗体であるEMab-134のサブクラスをマウスIgG<sub>1</sub>からIgG<sub>2a</sub>に遺伝子改変し (134-mG<sub>2a</sub>)、EGFRを強制発現させたCHO-K1

(CHO/EGFR) に対するEMab-134と134-mG<sub>2a</sub>の解離定数 ( $K_D$ ) をフローサイトメトリー (FCM) にて測定した。また、134-mG<sub>2a</sub>がCHO/EGFR細胞やヒト口腔扁平上皮がん細胞株 (HSC-2細胞、SAS細胞) においてADCC活性およびCDC活性を示すかを検討した。さらに、CHO/EGFR、HSC-2、SASを用いたマウス異種移植片モデルにおいて、134-mG<sub>2a</sub>の抗腫瘍効果を評価した。

(結果) 134-mG<sub>2a</sub>とEMab-134の $K_D$ はそれぞれ $2.1 \times 10^{-9}$  M、 $3.2 \times 10^{-9}$  Mであり、134-mG<sub>2a</sub>とEMab-134の結合能は同等であった。また、134-mG<sub>2a</sub>は、CHO/EGFR細胞、HSC-2細胞、SAS細胞に対し、高いADCC活性/CDC活性を示した。さらに、CHO/EGFR、HSC-2、SASのマウス異種移植片モデルにおいて、134-mG<sub>2a</sub>はマウスIgGおよびEMab-134と比べ、有意に高い抗腫瘍効果を示した。

(結論) 新規の抗EGFRモノクローナル抗体である134-mG<sub>2a</sub>は、EGFRを過剰発現する口腔扁平上皮がんに対して高い抗腫瘍活性を示した。

## 新規エピトープマッピング法(HisMAP法)を用いた抗CD20モノクローナル抗体のエピトープ解析

○浅野 禎三<sup>1</sup>、田中 智大<sup>1</sup>、佐野 雅人<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>2</sup>、鈴木 裕之<sup>2</sup>、金子 美華<sup>1</sup>、加藤 幸成<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬研究分野、<sup>2</sup>東北大・院医・分子薬理学

**【背景】**モノクローナル抗体のエピトープを解明することは、ワクチンや抗体医薬品の開発において重要である。X線結晶構造解析は非常に強力な手法であるが、費用と時間がかかることが欠点である。一方、ペプチドアレイや点変異体を用いた解析は線状エピトープの解析に有用であるが、構造的エピトープを決定することは困難である。我々は簡便な方法で構造的エピトープを決定するために、新規エピトープマッピング法(HisMAP法)を開発した。HisMAP法は5個の連続したヒスチジンからなるペプチド(5xH\*)をタンパク質に挿入した変異体を作製し、エピトープを決定したい抗体との反応性の変化を調べることによりエピトープを決定する方法である。これまで我々は、HisMAP法を用いていくつかの構造的エピトープの決定に成功している。本研究ではHisMAP法の有用性の確認および、HisMAP法を用いた抗CD20抗体(C<sub>20</sub>Mab-60)のエピトープの決定を目的とした。

**【方法】**CD20の細胞外領域配列を合成した6ペプチドとC<sub>20</sub>Mab-60との反応性を、ELISAを用いて確認した。次にHisMAP法を用いて、C<sub>20</sub>Mab-60のエピトープ解析を試みた。CD20のAsn140からGln187の間に5xH\*配列を挿入した47変異体を作製し、C<sub>20</sub>Mab-60およびリツキシマブとの反応性を、フローサイトメトリーを用いて確認した。

**【結果】**ELISA解析では、CD20の160番目から179番目の配列のペプチドにのみC<sub>20</sub>Mab-60は反応性を示した。さらにHisMAP法を用いた解析では、CD20のPro169からGlu174およびCys183からGln187の間に5xH\*を挿入した9変異体ではリツキシマブとの反応性が消失し、Asn171からGlu174の間に5xH\*を挿入した3変異体は、C<sub>20</sub>Mab-60との反応性が消失した。

**【結論】**HisMAP法により、C<sub>20</sub>Mab-60のエピトープはCD20のAsn171、Pro172、Ser173、Glu174であることが明らかになった。HisMAP法は簡便なエピトープ解析法であり、様々な抗体医薬のエピトープ解析に有用であることが示唆された。



## Nano-lucを用いたタンパク質間相互作用阻害剤の探索

○鈴木 裕之<sup>1</sup>、金子 美華<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・分子薬理学分野、<sup>2</sup>東北大・院医・抗体創薬

Protein-protein interactions (PPIs) play critical roles in the regulation of biological processes and the development of diseases. Our group found that THG-1 (TSC22 homologous gene-1) localized in the basal layer of normal squamous epithelium and overexpressed in squamous cell carcinomas. THG-1 is phosphorylated by the EGF-Ras-ERK pathway which is essential for promoting tumorigenesis. We also identified several THG-1 interacting proteins. Among them, Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein1)-THG-1 interaction promotes the stability of Nrf2 (NF-E2-related factor2), which plays a crucial role in tumor progression. Therefore, inhibition of Keap1-THG-1 interaction is thought to be important for tumor suppression. In this study, we established a system to quantify the Keap1-THG-1 interaction using Nano-luc system, and performed drug repositioning screening of a chemical library from Univ. Tokyo. We identified several compounds as THG-1-Keap1 interaction inhibitor. Among these, a compound suppressed pNQO-1-ARE-luc and pHO-1-luc, suggesting that it suppresses the Nrf2 transcriptional activity. These results indicated that our screening system successfully screen the inhibitor of THG-1-Keap1 interaction. Further evaluation and large scale screening are required for future drug development.

## 低酸素環境に応答した核内遺伝子配置変化の解析

○中山 恒

旭川医科大・医・薬理学

生体内では、血流量の減少や細胞密度の変化により、低酸素環境が形成される。低酸素環境は細胞活動を制限し、細胞死を誘導することもあるため、呼吸、代謝、細胞増殖などを調節し、適切に応答することが必要である（低酸素応答）。この応答で中心的な働きをする転写因子がHypoxia-Inducible Factor (HIF)である。低酸素環境ではHIFの発現が速やかに上昇して、適応状態が構築される。HIFは100種類以上の標的遺伝子を持ち、それらが協調して働くことにより体系的に低酸素応答を制御する。HIFの標的遺伝子には、解糖系制御、細胞死抑制、血管新生、がん転移促進などにはたらくものがあり、その機能によってグループに分類することができる。各グループで働く遺伝子は同様のタイミングで誘導され、協働して、各々の生理応答を調節する。しかしながら、それらがどのように同調して発現するのかは明らかではなかった。

核内で染色体は、染色体ごとに特定の位置に存在している。HIFの標的遺伝子は異なる染色体上に存在しているため、核内では互いに一定の距離を保ちながら、離れて分布する。このため、低酸素応答時にHIFがこれらの遺伝子を、同じタイミングで効率的に発現させるためには、これらの遺伝子がHIFによって認識されやすいような配置をとる必要があると考えられた。そこで、核内遺伝子の大規模な配置解析を、オリゴプローブを用いた新型FISH技法を用いて実施し、HIF標的遺伝子の核内配置を検証した。その結果、配置変化が起こる遺伝子が複数存在することが明らかになった。さらに、二つのHIF標的遺伝子間の距離を測定したところ、低酸素環境に応答して、接近する遺伝子、離反する遺伝子の二つのタイプに分けられることが明らかになった。本発表では、遺伝子間距離の変化を引き起こすメカニズムとそれを標的とした創薬の可能性について議論したい。

## 体内時計の光環境適応機能に対するラクトフェリンの強化作用機序の解明

○守屋 孝洋<sup>1,2</sup>、檀崎 有沙<sup>1</sup>、佐藤 可那江<sup>1</sup>、平澤 典保<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奥羽大・薬・機能形態、<sup>2</sup>東北大院・薬・生活習慣

ラクトフェリンは初乳に多く含まれる分泌型糖タンパク質であるが、抗菌・抗ウイルス活性や抗不安作用、鎮痛作用、脳発達促進作用など多彩な薬理作用を示すことが報告されている。私たちは、ラクトフェリンの経口投与がマウス行動の概日リズムの光による位相変化作用を増強し、その標的組織は脳内に存在することを見出し、ラクトフェリンには体内時計の光環境適応機能を強化する作用を持つことを報告してきた。しかしながら、ラクトフェリンの作用点が体内時計の中核として働く視床下部・視交叉上核に存在するのかや、分子レベルの作用機序は不明である。本研究では、マウス視交叉上核や培養細胞モデルを用い、時計遺伝子の発現解析を通してラクトフェリンの作用機序を解明することを目的に実験を行った。ラクトフェリンの慢性投与は視交叉上核の光信号二次受容領域における光刺激誘発性の時計遺伝子 *Per1* の mRNA 発現誘導を高めることが観察された。視交叉上核の光信号二次受容領域には、網膜より直接的な神経投射を受ける光信号一次受容領域からガストリン放出ペプチド (GRP) の投射を受けている。そこでラクトフェリンが GRP 受容体刺激による体内時計の位相変化を増強している可能性をヒト GRP 受容体・安定発現細胞を用いて時計遺伝子::ルシフェラーゼ融合遺伝子のルシフェリン発光の連続測定によって検討したところ、ラクトフェリンの共刺激は GRP による発光リズムの位相変化を増強することが観察された。以上の結果より、ラクトフェリンは体内時計への光同調シグナル伝達経路の中で GRP 受容体シグナルを増強している可能性が示唆された。

## 嗜銀顆粒性認知症に対するPETバイオマーカーの探索

○原田 龍一<sup>1,2</sup>、堵 怡青<sup>1</sup>、Lerdsirisuk Pradith<sup>3</sup>、工藤 幸司<sup>2</sup>、古本 祥三<sup>3</sup>、岡村 信行<sup>3,4</sup>、谷内 一彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医、<sup>2</sup>東北大・加齢研、<sup>3</sup>東北大・CYRIC、<sup>4</sup>東北医科薬科大・医・薬理学分野

**【背景】** 嗜銀顆粒性認知症(AGD)は高齢に発症する認知症であり、アルツハイマー病のように優れたバイオマーカーは存在しない。AGDは4リピートタウオパチーに分類され、脳内には4Rタウから構成される嗜銀顆粒が蓄積する。近年、陽電子断層撮影法(PET)により非侵襲的にタウを画像化できるようになっているが、その適用は限定的である。我々も<sup>18</sup>F-THK5351からの最適化によりオフターゲット結合のないタウPETプローブ<sup>18</sup>F-SNFT-1を開発した。また、アストロサイトに主に発現するモノアミン酸化酵素B(MAO-B)を標的としたPETプローブ<sup>18</sup>F-SMBT-1を開発した。そこで本研究ではアミロイド、タウ、アストロサイトのPETプローブについてAGD脳試料に対する結合性を評価し、AGDのバイオマーカーとしての可能性を検証することを目的とする。

**【方法】** <sup>18</sup>F-Florbetaben、<sup>18</sup>F-SNFT-1、<sup>18</sup>F-SMBT-1、<sup>3</sup>H-MK-6240、<sup>3</sup>H-BU99008を用いて正常およびAGD患者の脳ホモジネートを用いてIn vitro結合試験を行った。また、不溶性タウの量はウェスタンブロッティングにより、GFAPはELISAにより定量し、各種トレーサーの結合量との相関解析を実施した。

**【結果】** タウのウェスタンブロッティングにより、AGDにおいて4Rタウの蓄積が確認された。In vitro結合試験の結果、タウPETプローブである<sup>3</sup>H-MK6240、<sup>18</sup>F-SNFT-1はAGDにおいて高い結合性は認められなかった。一方、アストロサイトのPETプローブである<sup>18</sup>F-SMBT-1、<sup>3</sup>H-BU99008の結合量はAGDの一部の症例で高い結合性を示し、<sup>18</sup>F-SMBT-1の結合量はGFAPの量と有意な相関を示した。

**【結論】** タウPETプローブはAGDの4Rタウ病変を検出することは難しいが、その一方でアストログリオシスを反映するPETプローブ<sup>18</sup>F-SMBT-1はAGDのバイオマーカーになる可能性が示唆された。

## 脂肪酸結合タンパク質およびドパミンD2受容体依存的な $\alpha$ シヌクレインの神経細胞取り込み機構と中分子治療薬の開発

○川畑 伊知郎、福永 浩司

東北大・院薬・先進脳

$\alpha$ シヌクレインは140個のアミノ酸残基から構成されるタンパク質であり、パーキンソン病においてドパミン神経に蓄積し、凝集体を形成する。 $\alpha$ シヌクレインが神経細胞に蓄積するためにはタンパク質が伝播し、細胞内に取り込まれる過程が必須である。私たちは最近、ドパミン神経の $\alpha$ シヌクレイン取込みに脂肪酸結合タンパク質FABP3が必須であることを見出した。FABP3は中枢神経系においてドパミン神経に発現し、ドパミンD2 long型 ( $D_{2L}$ ) 受容体に結合する。 $D_{2L}$ 受容体は細胞膜、特にカベオラ構造に豊富に局在することが知られる。そこで本研究では、 $\alpha$ シヌクレインの取込み過程におけるドパミン $D_{2L}$ 受容体およびFABP3の生理的意義の解明を目的とした。ATTO蛍光標識した $\alpha$ シヌクレインの取込み解析には、FABP3ノックアウトマウス、ドパミン $D_{2L}$ 受容体ノックアウトおよびD2 nullノックアウトマウス、および野生型C57BL6マウスから調製した初代培養ドパミン神経を用いた。免疫細胞化学的解析の結果、 $D_{2L}$ 受容体とFABP3は共局在した。また取り込まれた $\alpha$ シヌクレインと $D_{2L}$ 受容体は高度に共局在した。凝集した細胞内 $\alpha$ シヌクレインはドパミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) のリン酸化を亢進し、その分解を促進した。一方、 $D_{2L}$ ノックアウトまたはD2 nullノックアウトにおけるTH陽性細胞では、単量体および繊維型 $\alpha$ シヌクレインの取込みが認められなかった。さらにダイナミン阻害剤、またはカベオリン1のノックダウンによるカベオラ形成阻害により、 $\alpha$ シヌクレインの取込みが低下した。 $\alpha$ シヌクレインは、そのC末端欠損によりドパミン神経への取込み能を消失した。さらに $\alpha$ シヌクレインのC末ペプチド処置により、 $\alpha$ シヌクレインの取込みを阻害可能であることを明らかにした。これらの結果から、ドパミン神経における $\alpha$ シヌクレインの取込みには、カベオラ形成をとともなうドパミン $D_{2L}$ 受容体とFABP3が必須であることが示唆された。また、 $\alpha$ シヌクレインのC末を標的とした中分子治療薬の有効性が明らかとなり、パーキンソン病を含むシヌクレイノパチーの新たな疾患機序と創薬標的として期待される。

## 脳報酬系の神経活動は末梢免疫系に影響を与える

○鹿山 将<sup>1,2</sup>、池谷 裕二<sup>1,3</sup>、佐々木 拓哉<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東京大・院薬・薬作、<sup>2</sup>東北大・院薬・薬理、<sup>3</sup>Beyond AI 研

近年、情動と末梢免疫系との関連が注目されている。例えば、臨床的な知見では、笑うこと（正の情動発現）により、末梢の Natural Killer 細胞の活性が高まることが知られている (Bennet, 2003)。このような精神-末梢連関に関連する脳領域として、腹側被蓋野 (ventral tegmental area, VTA) が挙げられる。VTA には、報酬の獲得などの正の情動発現に関わるドーパミン神経細胞が存在し、脳報酬系の一部を担っている。このドーパミン神経細胞の活性化が、末梢免疫系に影響する可能性が報告され始めている。例えば、実験動物において、VTA ドーパミン神経細胞を人工的に活性化させると、一部の末梢免疫機能が亢進し、細菌や癌への抵抗性が高まることが報告されている (Shaanan, 2016; 2018)。しかし、VTA ドーパミン神経細胞のどのような活動パターンが末梢免疫系に影響を与えるか、生理的条件下においても同様の現象が起こり得るか、という点は未解明である。そこで我々は、光遺伝学的手法を用いて、高い時間解像度をもって VTA ドーパミン神経細胞の活動の頻度や時間を操作した。また、オスマウスをメスマウスに遭遇させ、生理的条件下で VTA ドーパミン神経細胞を活性化させた。そして、これらの条件下で、末梢免疫系を評価するために、血清中サイトカイン値を測定した。結果として、VTA ドーパミン神経細胞を断続的かつ高頻度に光刺激することで、血清中 IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  値が有意に増加した。また、オスマウスをメスマウスに遭遇させることで、血清中 IL-2 値が有意に増加した。さらに、VTA の神経活動を薬理的に抑制することで、メスマウスとの遭遇による血清中 IL-2 値の増加が抑制された。これらの結果から、報酬獲得時に見られるような、VTA ドーパミン神経細胞の断続的かつ高頻度な発火が、末梢免疫系に影響を与える可能性が示唆された。また、生理的条件下でも同様の現象が起きる可能性が示唆された。本研究の成果は、正の情動発現が末梢免疫系に影響する過程における、中枢神経活動の一端を明らかにした点で有意義であると考えられる。

## Captoprilの抗うつ作用における海馬アンジオテンシン系の関与

○中川西 修<sup>1</sup>、若生 美春<sup>1</sup>、小平 貴代<sup>1</sup>、小野 涼太郎<sup>1</sup>、高橋 浩平<sup>1,2</sup>、根本 亙<sup>1</sup>、丹野 孝一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>2</sup>国際医療福祉大・薬・薬理

近年、既存医薬品から新規作用を見出すエコファーマという試みが行われている。高血圧を併発しているうつ病患者にアンジオテンシン (Ang) 変換酵素阻害薬を投与することで抑うつ状態を改善することが報告されている。またAng II代謝産物であるAng (1-7) がMas受容体に作用することによりAT<sub>1</sub>受容体の反応に対し拮抗すること、Ang(1-7)の脳室内投与により抗うつ作用が認められること、さらに、AT<sub>1</sub>受容体遮断薬Valsartanの投与により海馬歯状回の神経新生を促進し抗うつ作用を示すことが報告されている。これらの報告から、エコファーマという観点を加味し海馬Ang系を標的としてCaptoprilの抗うつ作用について検討した。

うつ病モデル動物として嗅球摘出 (OBX) マウスを作製した。行動薬理的試験としてTail-suspension test (TST)及びSplash test (ST) を用いてうつ様行動を評価した。使用薬物はCaptopril、Ang II、Ang (1-7) 及びMas受容体遮断薬のA779を用いた。海馬神経新生の変化は免疫組織化学的染色後、共焦点顕微鏡を用いて観察した。海馬におけるAng (1-7) 分布及び定量は、Map Analyzerを用いて測定した。

OBX術後21日目において、TST及びSTにおいてうつ様行動が観察された。そのうつ様行動は、OBX術後14日目からの7日間 Captoprilの投与により有意に改善した。OBXマウスの海馬歯状回における未熟神経新生細胞数は有意な減少を示し、その減少はCaptoprilの反復投与により有意に抑制された。過去の報告よりCaptoprilの抗うつ作用にはAng (1-7) の増加が関与していることから、naïveマウスにAng (1-7) を脳室内投与した際、無動時間は有意に減少した。さらに、Captopril処置OBXマウスに対しA779を脳室内へ持続注入した際、Captoprilによる抗うつ作用は消失した。またOBXマウスの海馬においてAng (1-7) は有意に低下しCaptoprilにより改善した。

本研究の結果より、Captoprilは海馬Ang (1-7) を増加させMas受容体に作用することにより海馬歯状回における神経新生を促進させ抗うつ作用を示す可能性を明らかにした。

## レスベラトロールはオートファジーを活性化して加齢による筋萎縮と運動機能低下を軽減する

○細田 隆介、久野 篤史、中島 龍汰、朝倉 聖大、岩原 直敏、野島 伊世里、國本 梨沙、堀尾 嘉幸

札幌医科大・医

加齢に伴う骨格筋量の減少・筋力の低下（サルコペニア）は健康寿命短縮の大きな要因である。SIRT1はNAD<sup>+</sup>依存性ヒストン脱アセチル化酵素で、オートファジーを正に制御する。オートファジー実行因子の欠失で筋萎縮がみられること、骨格筋のオートファジー活性は加齢に伴い低下することが知られている。最近、我々はDuchenne型筋ジストロフィーモデルマウスへのSIRT1活性化薬レスベラトロール（RSV）の投与が、オートファジー活性を促進して筋量と運動機能を維持することを報告した。本研究ではRSVが加齢に伴うサルコペニアを、オートファジーを活性化することにより抑制するかを検討した。

DDYマウスに23週齢から通常食またはRSV (0.4 g/kg diet) 含有食を37週間投与した。運動機能の変化を評価するために、ロタロッド走行時間を測定した。ロタロッド走行時間は両群で経時的に短くなったが、50週齢の時点では通常食群と比べてRSV群で有意に維持されていた。60週齢の時点で通常食群 (60 wo) またはRSV群 (60 wo+RSV) から骨格筋を採取して、20週齢のマウス (20 wo) と比較検討した。筋線維径は20 woと比較して60 woで縮小していたが、60 wo+RSVでは維持されていた。ウエスタンブロットによる解析では、20 woと比べ60 woでアセチル化リジンレベルが増加していたが、それはRSVにより抑制されたことから、加齢によるSIRT1活性の低下とRSVによる回復が示唆された。60 woでは20 woと比べてオートファジー活性の指標であるLC3-II/LC3-I比や免疫染色によるLC3 dotレベルは低下、オートファジーにより分解されるp62蛋白やユビキチン化蛋白レベルは増加していたことから、加齢によるオートファジー活性の低下と考えられた。これらの指標は60 wo+RSVで改善していた。オートファジー促進因子であるリン酸化AMPK (T172)・ULK1 (S555) レベルや、オートファジー抑制シグナルであるリン酸化ULK1 (S757)レベルはRSVで変化しなかった。

これらの結果から、RSVは加齢による運動能低下と筋萎縮を軽減すること、そしてその機序にはSIRT1の活性化によるオートファジー活性の回復が寄与する可能性が示された。



## 長期粉末食飼育による結腸機能の低下—TRPV1およびTRPV4の関与—

○八百板 富紀枝<sup>1</sup>、土谷 昌広<sup>2</sup>、丹野 孝一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北医科薬科大・薬、<sup>2</sup>東北福祉大・健康科学・保健看護

【目的】現代社会が抱える問題点の一つに、軟らかい食品の摂取や不十分な咀嚼に起因する食習慣の質的な低下が挙げられる。これらの問題に関連して当研究室では、マウスを長期間粉末食で飼育することで引き起こされる情動行動の障害や咀嚼活動負荷に起因したストレスホルモンである血清コルチコステロン濃度の変化などについて報告してきた。近年、炎症性腸疾患（IBD）や過敏性腸症候群（IBS）が増加しており、これらの疾患とストレスの関連性が示唆されている。一方、transient receptor potential vanilloid receptor-1（TRPV1）およびTRPV4は、痛みや炎症に関与することが知られているが、特に下部消化器では、消化管運動への関与並びにIBDおよびIBSにおいてはその発現量の変化が報告されている。しかし、これまでに食習慣の質的な低下による結腸機能への影響に対するTRPV1およびTRPV4の関与に関する報告はない。

以上のことを踏まえて本研究では、マウスを長期間粉末食で飼育したときの結腸機能におけるTRPV1およびTRPV4の関与について検討を行った。

【方法】実験には、離乳直後3週齢のBalb/c雄性マウスを使用し、飼料は粉末タイプ（粉末食飼育群）およびペレットタイプ（固形食飼育群）を用い、17週間飼育を行った。薬物は、TRPV1拮抗薬・SB-366791およびTRPV4拮抗薬・RN-1734を0.5% Tweenに懸濁し、腹腔内に投与した。結腸機能は、糞の数並びに糞中の水分量で評価した。さらに、結腸組織をサンプルとしてTRPV1およびTRPV4タンパク質の発現量について検討を行った。

【結果・考察】固形食飼育群と比較して粉末食飼育群においては、糞数並びに水分量の低下、TRPV1およびTRPV4タンパク質の発現量の増加が認められた。また、粉末食飼育群における糞数の低下はTRPV1拮抗薬の投与によって有意に改善されたが、TRPV4拮抗薬投与による有意な影響は認められなかった。一方粉末食飼育群における水分量の低下はTRPV4拮抗薬の投与によって有意に改善されたが、TRPV1拮抗薬投与による有意な影響は認められなかった。

以上のことから、マウスを長期間粉末食で飼育することにより結腸機能の低下が引き起こされ、これにはTRPV1およびTRPV4の活性化の関与が示唆された。

## ROCKs阻害による骨芽細胞分化促進メカニズムの解析

○柿原 嘉人、佐伯 万騎男

新潟大・歯

Rho キナーゼが骨のターンオーバーを調節し、適切な骨代謝を維持するために重要な役割を担っていることが明らかになりつつあるが、Rhoキナーゼとその下流のエフェクター因子であるROCKs (Rho associated coiled-coiled-coil kinases) の骨組織における詳細なメカニズムと意義については、未だ解明されていない。我々は、以前の研究によってROCKsを阻害することによって、骨芽細胞分化が促進されることを見出した。本研究では、さらに詳細にROCKs阻害が骨芽細胞分化にどのような影響を及ぼしているのかについて解析を行った。

MC3T3-E1細胞をROCK阻害剤 (Y-27632) 存在下で骨芽細胞分化誘導すると、石灰化が促進することを以前に示したため、細胞外小胞の分泌に対する影響について調べた。まず、培地中の細胞外小胞を単離し、ウエスタンブロット解析を行ったところ、Y-27632存在下では一連の小胞タンパク質 (CD9, ALP, アネキシンなど) の増加が見られた。さらに、質量分析によって詳細なタンパク質解析を行ったところ、多くのRabファミリー低分子量GTPaseの増加が検出された。それらのタンパク質についてウエスタンブロット解析で確認したところ、Rab11とRab35の顕著な発現亢進が見られたことから、ROCK阻害が細胞外小胞の分泌経路を亢進する可能性が示唆された。Rab11a、Rab11bおよびRab35の個別ノックダウンは、ALP及びコラーゲンの発現レベルに影響を与えなかったが、一方で、それらの各遺伝子とRunx2のダブルノックダウンは、Runx2のシングルノックダウンに比べてALPとコラーゲンの発現レベルを顕著に低下させた。

本研究によって、ROCKs阻害は骨芽細胞分化過程のRabタンパク質の発現を亢進し、細胞外小胞の分泌を促進させること、またRab11a, Rab11b, Rab35がRunx2によって制御され、協調的にALPとコラーゲンの発現レベルを制御していることが明らかになった。

## 細胞質ダイニン軽鎖Tctex-1によるGタンパク質共役型受容体/Gsシグナルの増強機構

○齋藤 将樹<sup>1</sup>、鈴木 裕之<sup>1</sup>、金子 美華<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・分子薬理、<sup>2</sup>東北大・院医・抗体創薬

Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) を介した三量体Gタンパク質シグナルは、多様に調節されることがGPCRの生理作用発現に重要である。最近、GPCRに直接結合するタンパク質が、三量体Gタンパク質シグナルを多様に調節することが分かり始めてきた。しかし、結合タンパク質による調節機構には未解明のことが多い。副甲状腺ホルモン受容体 (PTHr) はGsに共役し、アデニル酸シクラーゼ (AC) 活性化とサイクリックAMP (cAMP) 産生を促進する。我々はこれまで、PTHrの直接結合タンパク質として細胞質ダイニン軽鎖Tctex-1を同定した。しかし、PTHrのGsシグナルにおけるTctex-1の役割は不明であり、本研究で解明した。まず、PTHrを安定発現したHEK293細胞を樹立し、Tctex-1をノックダウンしたところ、PTHrの細胞表面量は変化しなかった。それにもかかわらず、PTH-(1-34) 誘導性のcAMP産生量は減少した。内在性PTHrを発現するマウス骨芽前駆細胞株MC3T3-E1細胞においても同様の結果が得られた。すなわち、Tctex-1はPTHrのGsシグナルを亢進することが示された。Tctex-1と結合しないPTHr変異体 (PTHr-KRVS) を介するcAMP産生量は、野生型PTHrと同程度にTctex-1ノックダウンによって減少したことから、PTHrとTctex-1の結合はGsシグナルに寄与しないことが考えられた。次に、HEK293細胞に内在性に発現するb2アドレナリン受容体をイソプロテレノールで刺激したところ、cAMP産生量はTctex-1ノックダウンによって抑制された。AC活性化薬フォルスコリン誘導性のcAMP産生はTctex-1ノックダウンで抑制された。これらの結果より、Tctex-1がACを活性化することが示された。さらに、PTHrによって活性化されるACタイプ6 (AC6) は細胞膜でTctex-1と共局在すること、および精製タンパク質を用いたin vitro実験系にてTctex-1とAC6が直接結合することを見出した。以上の結果より、Tctex-1はAC6を直接活性化し、PTHr/Gsシグナルを亢進することが示された。本研究により、GPCR/Gsシグナルの新規調節機構としてTctex-1によるAC活性の増強作用が見出された。

(参考論文) Saito M *et al.*, J. Pharmacol. Sci., 145, 150-154 (2021)

## ヒト乳がんのマウス移植片モデルにおける抗TROP2抗体の抗腫瘍効果の検討

○田中 智大<sup>1</sup>、大石 智一<sup>2</sup>、浅野 禎三<sup>1</sup>、佐野 雅人<sup>1</sup>、斎藤 将樹<sup>3</sup>、鈴木 裕之<sup>3</sup>、金子 美華<sup>1</sup>、川田 学<sup>2</sup>、加藤 幸成<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・抗体創薬、<sup>2</sup>微化研・沼津、<sup>3</sup>東北大・院医・分子薬理学

**【背景】**抗体医薬品開発は近年ますます加速しつつあり、抗体と薬物をリンカーで結合した抗体薬物複合体（ADC）や、がん細胞を認識するよう遺伝子改変したT細胞を用いたCAR-T療法への応用など抗体技術の汎用性が注目されている。trophoblast cell surface antigen 2（TROP2）は乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がんなど多くの固形がんで過剰発現が報告されており、2020年に抗TROP2 ADCが転移性乳がんに対して米国で承認されるなど、新しいがん治療ターゲットとなっている。我々はこれまでに独自の抗TROP2モノクローナル抗体の開発に取り組み、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、免疫組織化学染色といった様々な実験に使用できるクローンTrMab-6を樹立した。本研究では、臨床応用を目指し、TROP2発現株を用いた細胞障害活性の検討、および、乳がんのマウス移植片モデルでのTrMab-6の抗腫瘍効果を評価した。

**【方法】**CHO-K1、CHO/TROP2や、乳がん細胞株であるMCF7、BINDS-29（MCF7/TROP2 KO）、MDA-MB-468、MDA-MB-231を用いて、抗体依存性細胞障害活性（ADCC）と補体依存性細胞障害活性（CDC）を検討した。乳がんのマウス移植片モデルでは、TrMab-6を腹腔内投与し、腫瘍体積、腫瘍重量、体重変化を評価した。

**【結果】**CHO/TROP2、MCF7、MDA-MB-468、MDA-MB-231に対し*in vitro*試験においてTrMab-6はADCC、CDC活性を示し、*in vivo*試験では腫瘍体積および腫瘍重量を減少させた。一方でいずれの試験でもTROP2を発現していないCHO-K1、BINDS-29には細胞障害活性を示さなかったことから、TrMab-6の効果はTROP2依存的であることがわかった。

**【結論】**TrMab-6は様々な実験に適用できるだけでなく、トリプルネガティブ乳がんを含む乳がんのマウス移植片モデルにおいて抗腫瘍効果を有することが明らかとなった。ADCやCAR-Tといったモダリティへの応用が期待される。

## 謝辞

本学会の開催に当たり、東北医薬品協議会からご協力いただきました。ここに深甚なる感謝の意を表します。

(令和3年9月1日)

### 東北医薬品協議会 (33社)

- |                |                         |
|----------------|-------------------------|
| 1 旭化成ファーマ株式会社  | 21 株式会社ツムラ              |
| 2 アステラス製薬株式会社  | 22 帝人ヘルスケア株式会社          |
| 3 アストラゼネカ株式会社  | 23 テルモ株式会社              |
| 4 エーザイ株式会社     | 24 鳥居薬品株式会社             |
| 5 大塚製薬株式会社     | 25 日本イーライリリー株式会社        |
| 6 小野薬品工業株式会社   | 26 日本化薬株式会社             |
| 7 科研製薬株式会社     | 27 日本ケミファ株式会社           |
| 8 クラシエ薬品株式会社   | 28 日本新薬株式会社             |
| 9 キッセイ薬品工業株式会社 | 29 ノボノルディスクファーマ株式会社     |
| 10 杏林製薬株式会社    | 30 バイエル薬品株式会社           |
| 11 協和キリン株式会社   | 31 扶桑薬品工業株式会社           |
| 12 興和株式会社      | 32 Meiji Seika ファルマ株式会社 |
| 13 塩野義製薬株式会社   | 33 持田製薬株式会社             |
| 14 ゼリア新薬工業株式会社 |                         |
| 15 第一三共株式会社    |                         |
| 16 大正製薬株式会社    |                         |
| 17 大日本住友製薬株式会社 |                         |
| 18 大鵬薬品工業株式会社  |                         |
| 19 田辺三菱製薬株式会社  |                         |
| 20 中外製薬株式会社    |                         |

第72回日本薬理学会北部会  
部会長 丹野 孝一

第 72 回 日本薬理学会北部会  
プログラム & 抄録集

部会長： 丹野 孝一

事務局： 東北医科薬科大学 薬学部 薬理学教室内  
〒 981-8558 仙台市青葉区小松島 4 丁目 - 4 - 1  
TEL/FAX: 022-727-0123  
E-mail: hokubu72@tohoku-mpu.ac.jp

出版・ホームページ：日本プリプレス株式会社  
〒 162-0834 東京都新宿区北町 29  
TEL: 03-6457-5903 FAX: 03-6457-5904  
E-mail: contact@jprepress.jp

発行日：令和 3 年 9 月

開催場所：宮城県仙台市（インターネット）