

The 136th Kinki Branch Meeting in Osaka

第 136 回

日本薬理学会近畿部会

プログラム・要旨集

2019年11月23日(土)

大阪



The Japanese Pharmacological Society



第136回 日本薬理学会 近畿部会

2019年11月23日(土)

摂南大学枚方キャンパス

(〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1)

部会長 荻田 喜代一

事務局：摂南大学薬学部 薬理学研究室

〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1

TEL: 072-866-3111/FAX: 072-839-9451

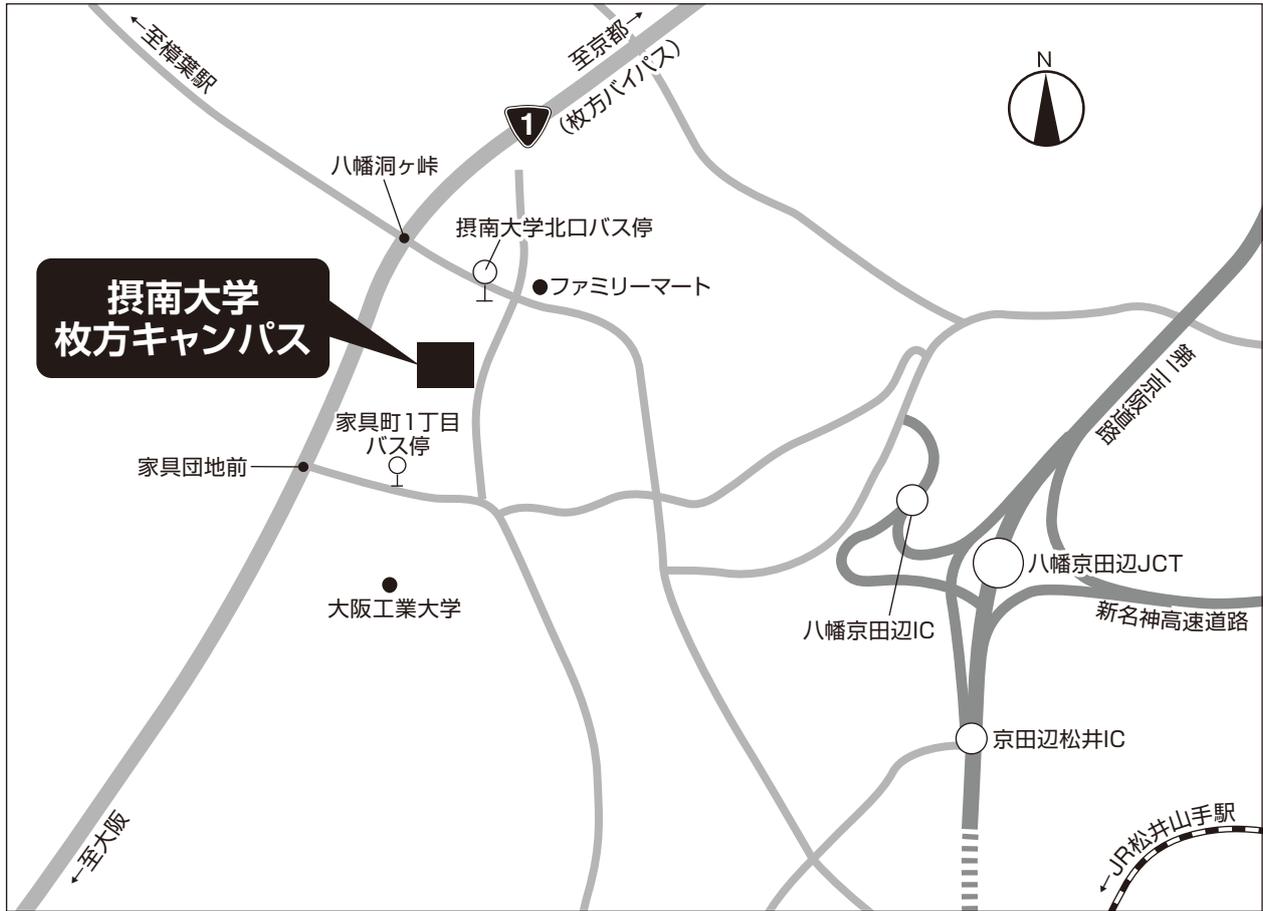
E-mail: jpskinki136@pharm.setsunan.ac.jp

<http://kinki-jps136.umin.jp/>

INDEX

会場へのアクセス	2
会場案内図	4
お知らせとお願い	6
会場・進行時間・座長一覧表	9
プログラム	11
発表要旨	
A 会場	23
B 会場	37
C 会場	51
事前登録者名簿	65
謝 辞	70

会場へのアクセス



※車でお越しの先生方……ナビに「大阪工業大学八幡工学実験場事務室」と入力すると、大学の駐車場までスムーズにアクセスできます。

■ 枚方キャンパスへのアクセス

大阪駅から約 45分	大阪駅	JR環状線・外回り 約7分	京橋駅	JR・快速 約28分	松井山手駅	京阪バス 約10分	枚方キャンパス		
天王寺駅から約 52分	天王寺駅	JR環状線・内回り 約14分	京橋駅	JR・快速 約28分	松井山手駅	京阪バス 約10分			
京都駅から約 36分	京都駅	近鉄・急行 約8分	丹波橋駅	京阪・特急 約13分	樟葉駅	京阪バス 約15分			
京都駅八条口から約 40分	京都駅八条口	(当日はチャーターバスのみ)							
三ノ宮駅から約 76分	三ノ宮駅	JR・新快速 約17分	尼崎駅	JR・快速 約49分	松井山手駅	京阪バス 約10分			
和歌山駅から約 121分	和歌山駅	JR・直通快速 約69分	天王寺駅	JR環状線・内回り 約14分	京橋駅	JR・特急 約28分		松井山手駅	京阪バス 約10分
奈良駅から約 41分	奈良駅	JR・普通 約8分	木津駅	JR・特急 約23分	松井山手駅	京阪バス 約10分			

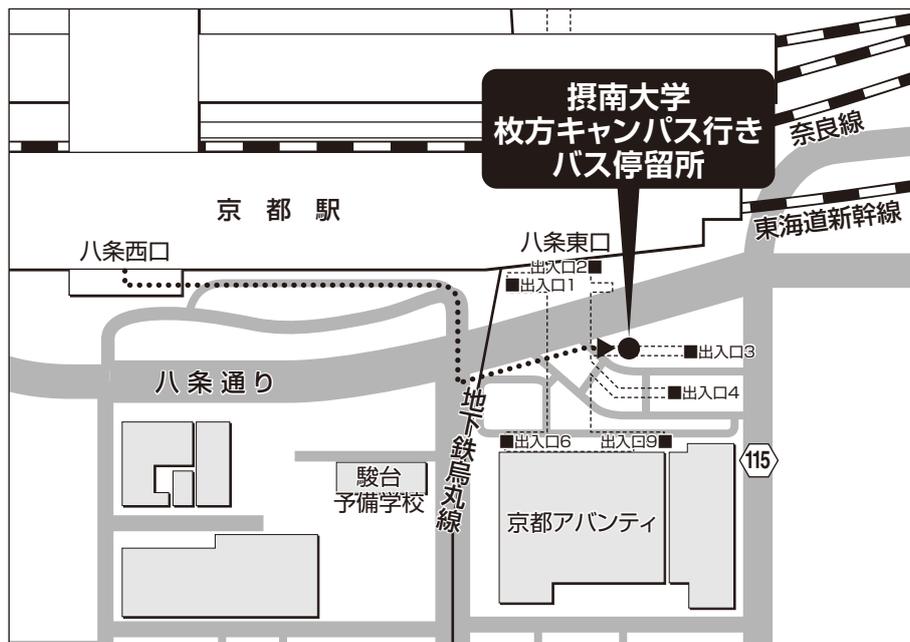
予約直通バス乗車場所

- 予約直通バスをご利用予定の皆さまへ
事前参加登録者の方には、乗車券を同封させていただきました。乗車券をお持ちの皆さまに優先して予約直通バスに乗りいただきますので、参加のみの皆さまにつきましてはご容赦ください。

■ 樟葉駅 (8:30発、9:00発)



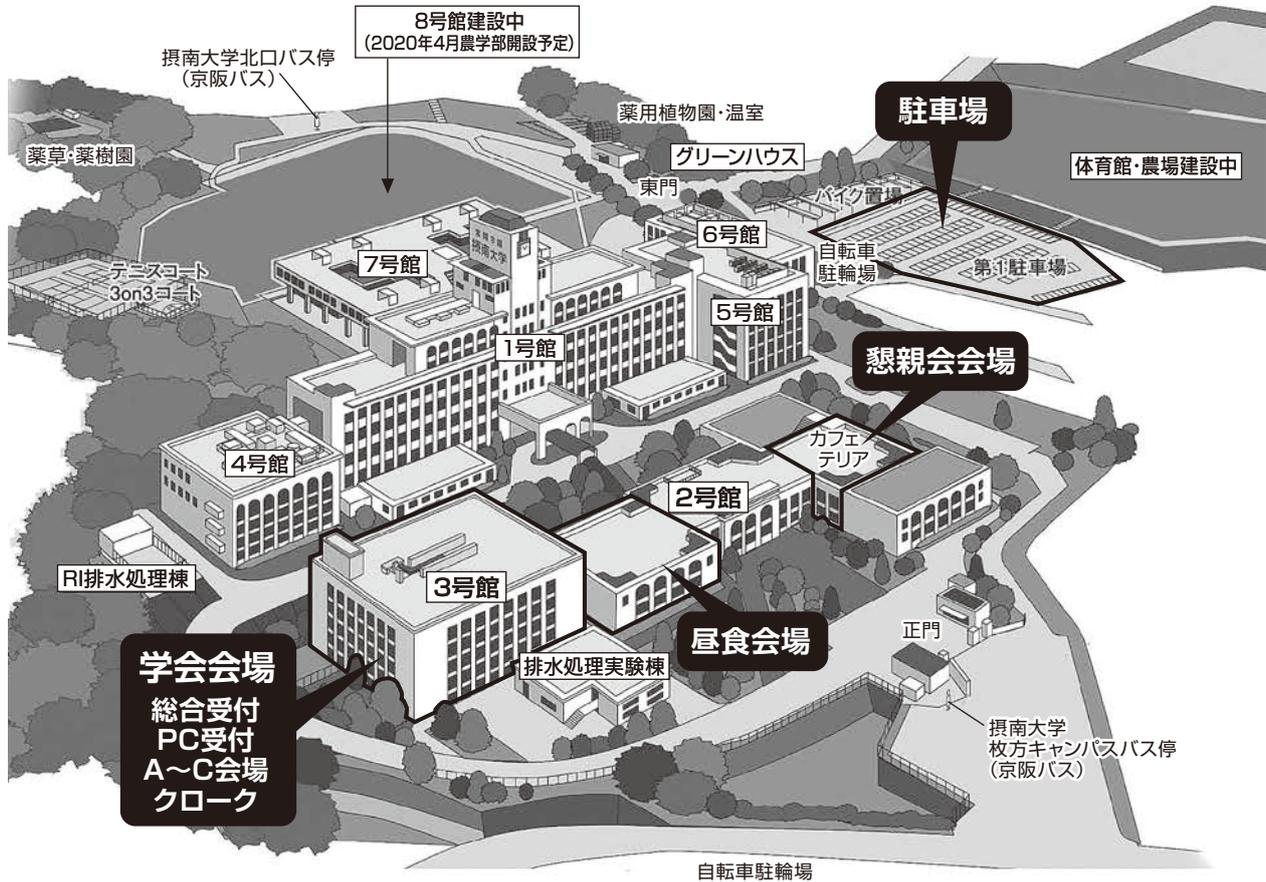
■ 京都駅八条口 (8:30発、8:45発)



会場案内図

摂南大学 枚方キャンパス校舎配置図

〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1 TEL:072-866-3111 FAX:072-839-9451



会場

- 3号館1階 総合受付、発表・座長受付、クローク
A会場（メディックスホール）：一般口演
- 3号館2階 B会場（321教室）：一般口演
C会場（322教室）：一般口演
休憩室（323、324教室）
- 3号館3階 学術評議員会会場（332教室）
来賓室（334教室）
- 2号館1階 昼食会場（レストラン）
懇親会会場（カフェテリア）

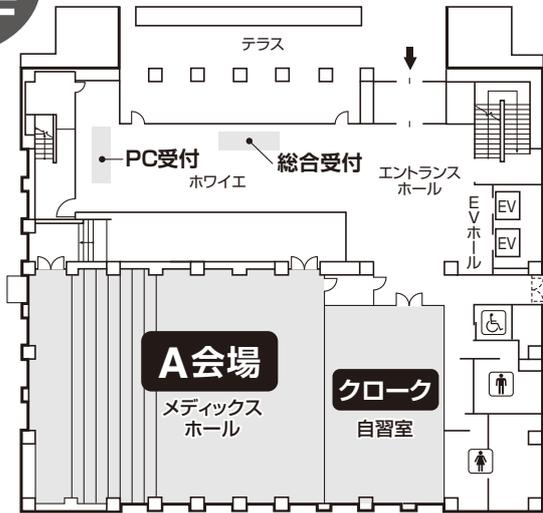
学会開催中の学会事務局

- 3号館3階 331教室（米山雅紀・山口太郎・尾中勇祐）

会場内案内図

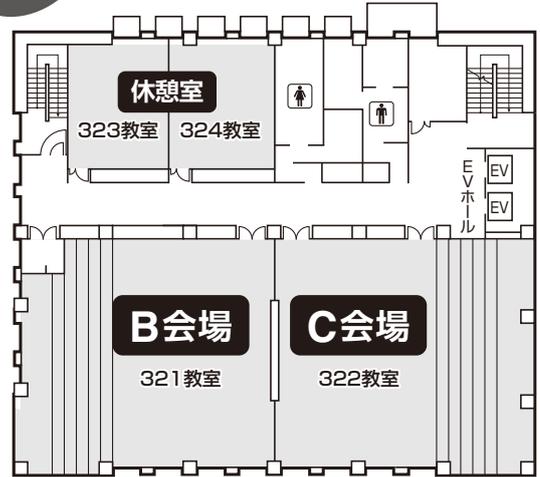
3号館

1F



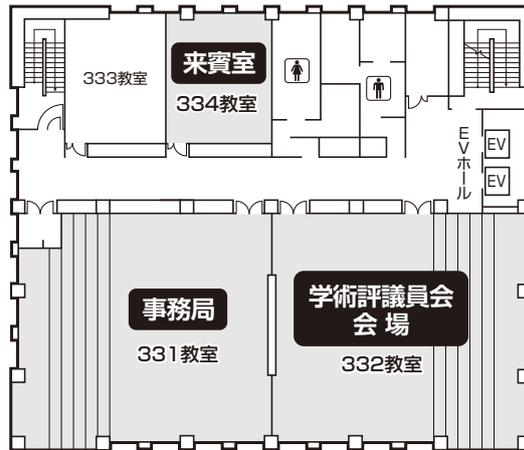
3号館

2F



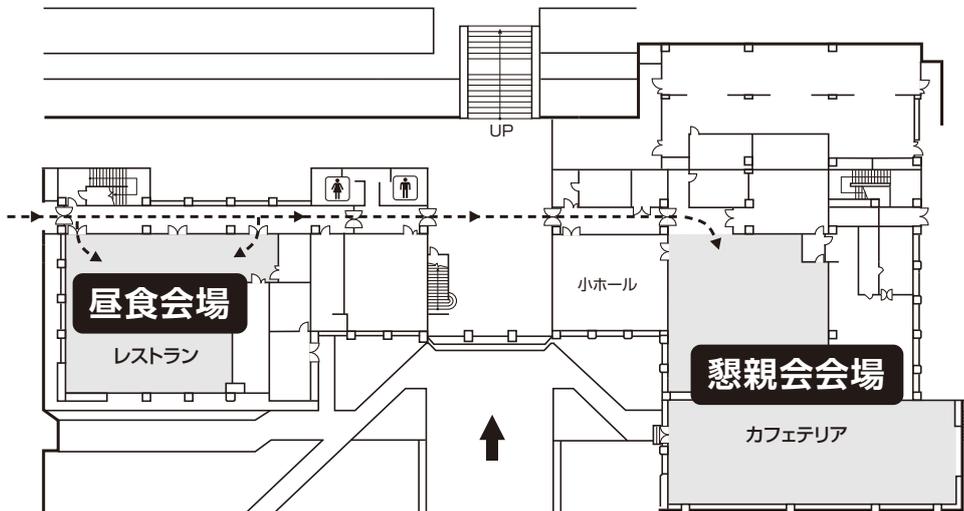
3号館

3F



2号館

1F



お知らせとお願い

参加者の皆様へ

1. 会場となっている建物は全館禁煙です。
2. 総合受付、参加受付、PC 受付は3号館1階にて午前9時00分より開始致します。座長受付は、ご担当いただくセッションの30分前までに、3号館1階総合受付でお願い致します。
3. 会場では参加証をお付けください。
4. 当日参加の方は総合受付で参加会費を添えて登録をお願いいたします。参加証およびプログラム・要旨集をお渡しいたします。

当日参加

学術評議員	6,000円
一般会員	5,000円
非会員	6,000円
大学院生・研修医	2,000円
学部学生	無 料(学生証を提示ください)
懇親会費	5,000円

5. 参加証をお忘れの方、紛失された方は総合受付にお申し出ください。
6. 会場内での写真撮影およびビデオ撮影は固くお断り致します。
7. 3号館1階メディックスホール前にて掲示板を用意致します。会場内の呼び出し等にご利用ください。
8. 3号館2階休憩室(323教室、324教室)にドリンクコーナーを設けます。数に限りがありますので予めご了承ください。

発表される方へ

【注意事項】

※スライドの1枚目に演題登録時に提出いただいた利益相反(COI)に関するスライドを入れてください。必要な際は、下記の日本薬理学会ホームページリンクからダウンロードし作成ください。

<http://www.pharmacol.or.jp/download/index.html>

※優秀発表賞応募学生の皆様は、当日、発表受付にて学部学生・大学院生であることを証明できる学生証を提示してください。

【発表準備】

1. 発表は全てプロジェクターを用いた PowerPoint によるプレゼンテーションで、A 会場では二画面、B 及び C 会場では一画面とします。
2. 会場で使用するコンピュータの OS は Windows10、アプリケーションは PowerPoint2016 です。
3. Macintosh で作成された場合には、必ず事前又は会場のコンピュータにて Windows10での動作確認をお願い致します。
4. コンピュータの持ち込みによる発表は受付致しませんのでご了承ください。

5. スライド作成時にはページ設定→スライドのサイズ設定→35mmスライドを選択し、スライド全体の9割以内の範囲に作成してください。コンピュータ間の移動時にずれる可能性が低くなります。また、フォントは日本語の場合はMS明朝およびMSゴシックを、英語の場合はTimes New Roman、ArialおよびCenturyをご使用ください。文字化けの可能性が低くなります。
6. 音声及び動画のデータをご使用になる際には、会場のコンピュータにて動作確認をお願い致します。音声、動画に関しては対応できない場合がございますのでご注意ください。
7. 発表用データファイルは、ファイル名を「演題番号+苗字(ローマ字)」(例:A-01-tanaka.pptx)とし、保存したUSBメモリーをご持参ください。ご持参いただくUSBメモリーには発表用ファイル以外は入れないでください。また、バックアップ用として、他のUSBメモリーをご持参いただくことをお勧め致します。
8. 発表用データファイルは一度ハードディスクおよび事務局のUSBメモリーにコピーさせていただきます。ファイルは発表終了後、事務局が責任をもって消去致します。
9. 口演の取り消し、演者の変更があれば、早急に事務局までご連絡ください。

【会場に着いたら】

1. 3号館1階のPC受付にて午前9時00分より発表用データファイルの受付を行います。発表予定の1時間前までに受付をお済ませくださいますようご協力お願い致します。午前10時から始まるセッションで発表の方は、時間に余裕を持ってPC受付にお越しくださいますようご協力お願い致します。
2. 発表用データは、PC受付のコンピュータ(WindowsPC)により、必ず動作確認をお願い致します。レイアウトがどうしてもずれる場合は、WindowsPCでご確認、訂正していただきます。
3. 発表の10分前には次演者席に着席ください。
4. 当日、口演の取り消し、演者の変更がある際には総合受付までご連絡ください。

【発表方法】

1. 口演時間は9分、討論時間は演者の交代を含めて3分です。ただし、学生優秀発表賞対象演題については、口演時間は7分、討論時間は演者の交代を含めて5分です。
2. 口演中は座長の指示に従ってください。
3. ご自身でキーボード、マウスを操作してプレゼンテーションを行ってください。
4. 口演時間終了1分前と終了時にそれぞれベルでお知らせ致します。口演時間の厳守をお願い致します。

【学生優秀発表賞について】

1. 学生優秀発表賞の結果は、閉会挨拶の際に発表し、3号館1階メディックスホール前の掲示板に掲示します。
2. 表彰式は懇親会にて行いますので、受賞者は必ず出席をお願い致します(ご招待)。

座長の先生へ

1. 座長の先生は、ご担当いただくセッションの30分前までに、3号館1階総合受付にて受付をお済ませになり、セッションの10分前までに会場内にお入りください。
2. セッションの進行は全て座長にお任せいたしますので、よろしくお願い致します。
3. 計時と照明等は進行補助が担当致します。
4. 学生優秀発表賞選考セッションでは、発表賞の審査も併せてお願い致します。受付時に選考用紙をお渡しいたします。セッションが終わりましたら選考用紙を速やかに3号館1階総合受付まで提出ください。

優秀発表賞審査員の先生へ

1. 優秀発表賞審査員の先生は、ご担当いただくセッションの30分前までに、3号館1階総合受付で受付をお済ませになり、セッション開始前までに会場にお入りください。
2. 受付時に選考用紙をお渡しいたします。セッションが終わりましたら選考用紙を速やかに3号館1階総合受付まで提出ください。

学術評議員の先生へ

1. 学術評議員会は12時30分から、3号館3階332教室にて行います。
2. 会場前の受付(12時10分より)で必要書類をお受け取りください。
3. 学術評議員会にご参加の先生方には昼食をご用意しております。

食事・お荷物のお預かり

1. 食事は2号館1階レストランをご利用ください。本学会の参加証をお持ちの方は無料で提供させていただきます。尚、数に限りがありますので予めご承知くださいますようお願いいたします。
2. 午前9時00分より16時45分まで3号館1階のクロークをご利用頂けます。
3. 懇親会に参加される方は、一度クロークで荷物を受け取られてから、懇親会会場に移動ください。

懇親会について

1. 学会当日16時45分より、2号館1階食堂にて懇親会を行います。
2. 当日参加をご希望の方は、3号館1階総合受付にて参加費5,000円を添えてお申し込みください。多数のご参加をお待ちしております。

薬剤師研修センター認定について

1. 本会は薬剤師研修センター認定の学術集会です。
2. 受講認定シールを希望される薬剤師の方には、当日総合受付で配布の際に、「薬剤師免許番号」を記入していただきますので、ご自身の「薬剤師免許番号」を控えて、当日必ずご持参ください。なお、認定シールをお渡しした方の「氏名」および「薬剤師免許番号」を含む受講者名簿は「公益財団法人日本薬剤師研修センター」へ提供いたしますので、予めご了承ください。

会場・進行時間・座長一覧表

日時：2019年11月23日(土) 会場：摂南大学枚方キャンパス 3号館

	A会場 (1階 メディックスホール)		B会場 (2階 321教室)		C会場 (2階 322教室)	
9:55~10:00	開会の辞(A会場)					
10:00~10:12	A-01	中枢神経1 座長 金子 周司 小山 豊	B-01	中枢神経・ 末梢神経・感覚器 座長 大野 行弘 川畑 篤史	C-01	免 疫 座長 田中 智之 奈邊 健
10:12~10:24	A-02		B-02		C-02	
10:24~10:36	A-03		B-03		C-03	
10:36~10:48	A-04		B-04		C-04	
10:48~11:00	A-05		B-05		C-05	
休 憩						
11:10~11:22	A-06	学生優秀発表賞1 座長 吾郷 由希夫 木口 倫一	B-06	学生優秀発表賞2 座長 新谷 紀人 藤井 正徳	C-06	学生優秀発表賞3 座長 笠井 淳司 永井 拓
11:22~11:34	A-07		B-07		C-07	
11:34~11:46	A-08		B-08		C-08	
11:46~11:58	A-09		B-09		C-09	
11:58~12:10	A-10		B-10		C-10	
休 憩						
12:30~13:30	日本薬理学会近畿部会 学術評議員会					会場：3階 332教室
休 憩						
14:00~14:12	A-11	学生優秀発表賞4 座長 石原 康宏 宝田 剛志	B-11	学生優秀発表賞5 座長 天ヶ瀬 紀久子 白川 久志	C-11	学生優秀発表賞6 座長 東 泰孝 中澤 敬信
14:12~14:24	A-12		B-12		C-12	
14:24~14:36	A-13		B-13		C-13	
14:36~14:48	A-14		B-14		C-14	
14:48~15:00	A-15		B-15		C-15	
15:00~15:12			B-16			
15:12~15:24	A-16	中枢神経2 座長 田熊 一敏 山田 清文		細胞・その他 座長 森 秀治 北谷 和之	C-16	心・血管・消化器・ 腎・泌尿器 座長 近藤 一直 中野 大介
15:24~15:36	A-17		B-17		C-17	
15:36~15:48	A-18		B-18		C-18	
15:48~16:00	A-19		B-19		C-19	
16:00~16:12	A-20		B-20		C-20	
休 憩						
16:20~16:25	閉会の辞					会場：A会場
休 憩						
16:45~18:45	懇親会・表彰式					会場：2号館 1階 カフェテリア

A series of horizontal dashed lines for writing.

プログラム

プログラム

A 会場(1階 メディックスホール)

中枢神経 1 10:00~11:00

座長：金子 周司(京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析学研究室)
小山 豊(神戸薬科大学 薬学部 薬理学研究室)

A-01 Nrf2活性化薬によるミクログリア活性化の抑制作用とその機序解析

○泉 安彦¹⁾、立本 愛¹⁾、有福 萌波²⁾、堀内 奈緒子¹⁾、杉山 峰是¹⁾、井川 紗央里¹⁾、
八巻 耕也¹⁾、久米 利明^{2,3)}、小山 豊¹⁾

1)神戸薬科大・薬・薬理、2)京都大・院薬・薬品作用解析、3)富山大・院医歯薬・応用薬理

A-02 エンドセリン ET_B 受容体を介するアストロサイト Na-K-Cl 共輸送体 -1(NKCC1)の発現増加

○小山 豊¹⁾、濱田 靖祥¹⁾、井高 佐知子¹⁾、長田 彩夏¹⁾、道永 昌太郎²⁾

1)神戸薬科大・薬、2)大阪大谷大・薬

A-03 SNAT1は脳内の mTOR- オートファジー経路の制御因子である

○山田 大祐¹⁾、土佐 郁恵¹⁾、塚本 俊平¹⁾、米田 幸雄^{2,3)}、宝田 剛志¹⁾

1)岡山大・院医歯薬、2)大阪大・歯、3)予防薬理学研究所

A-04 Sigma-1 受容体刺激による TrkB 活性化を介した中枢神経再生

○那須 隆斗、郡山 恵樹

鈴鹿医療科学大

A-05 乾癬モデルマウスの痒みを担う脊髄内調節機構

○木口 倫一、雑賀 史浩、松崎 伸介、岸岡 史郎

和歌山県立医科大・医・薬理

学生優秀発表賞 1 YIA 11:10~12:10

座長：吾郷 由希夫(大阪大学大学院薬学研究科 薬剤学分野)
木口 倫一(和歌山県立医科大学 医学部 薬理学研究室)

A-06 有機ゲルマニウム化合物 repagermanium は H₂S により誘起される Ca_v3.2 T 型カルシウムチャネル活性上昇とマウスにおけるアロディニアを直接的に阻害する

○小池 寧々¹⁾、杉本 果歩¹⁾、増田 寛志¹⁾、島田 康弘²⁾、佐藤 克行²⁾、中村 宣司²⁾、
山口 浩明³⁾、田邊 元三⁴⁾、丸本 真輔⁵⁾、笠波 嘉人¹⁾、関口 富美子¹⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2)(株)浅井ゲルマニウム研究所、3)山形大・院医、4)近畿大・薬・有機化、
5)近畿大・共同利用セ

A-07 脳卒中後疼痛における脳から脊髄に投射する orexin 神経系の関与

○松浦 渉、徳山 尚吾

神戸学院大・薬

A-08 視床 VPL 核内のニコチン性アセチルコリン受容体刺激による疼痛抑制作用へのモノアミン作動性神経系の関与についての検討

○金城 達弥¹⁾、福林 新¹⁾、御船 正樹¹⁾、佐治 英郎²⁾、上田 真史¹⁾

1)岡山大・院医歯薬、2)京都大・院薬

A-09 ニコチン誘発振戦の薬理特性評価とドパミン神経系による発現調節

○加藤 将貴、國澤 直史、清水 佐紀、石倉 惟加、平田 捺稀、安永 美月、大野 行弘

大阪薬大・薬・薬品作用解析

A-10 母体の ω -3不飽和脂肪酸摂取と仔の熱性けいれん感受性の関係

○川野 真慈¹⁾、馬場 直道²⁾、対馬 忠広²⁾、三澤 嘉久²⁾、石原 康宏¹⁾

1)広島大・院総合科学・分子脳科学、2)備前化成株式会社

学生優秀発表賞4 YIA 14:00～15:00

座長：石原 康宏(広島大学大学院統合生命科学研究科 生命医学プログラム)

宝田 剛志(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 組織機能修復)

A-11 NMDA 受容体過剰興奮に伴う神経細胞毒性に対する細胞内カリウム濃度変動の影響

○東 紘史、金城 俊彦、宇野 恭介、倉本 展行

摂南大・薬

A-12 内側前頭前野 α 1アドレナリン受容体活性化によるてんかん発作の誘発促進機構

○二井谷 和平¹⁾、笹瀬 人暉²⁾、伊藤 志穂²⁾、矢口 立真¹⁾、堂本 将輝²⁾、和田 進太郎²⁾、泉 翔馬¹⁾、出山 諭司²⁾、檜井 栄一²⁾、金田 勝幸²⁾

1)金沢大・薬・薬理、2)金沢大・院薬・薬理

A-13 セロトニン神経伝達の亢進は悲観的な意思決定を改善した

○安藤 千紘¹⁾、西谷 直也^{1,2)}、高山 海都¹⁾、澁井 紀宏¹⁾、永安 一樹¹⁾、白川 久志¹⁾、金子 周司¹⁾

1)京都大・院薬、2)北海道大・院医

A-14 Possible involvement of homocysteine on neuronal leptin resistance in obesity

○Isnani Preninka Arini, Hosoi Toru, Yoshii Michiko, Ozawa Koichiro

広島大・院医歯薬保健・治療薬効

A-15 アデノ随伴ウイルスベクターを用いた全脳多重蛍光標識法の開発

○山浦 港生¹⁾、笠井 淳司¹⁾、丹生 美咲¹⁾、勢力 薫^{1,2)}、宮司 溪汰¹⁾、田沼 将人¹⁾、佐藤 大輝¹⁾、彌永 祐輔¹⁾、橋本 均^{1,3,4,5,6)}

1)大阪大・院薬・神経薬理、2)大阪大・国際共創、3)大阪大・院連合小児・子どものこころセ、

4)大阪大・データビリティフロンティア機構、5)大阪大・先導的学際研究機構、6)大阪大・院歯・薬理

座長：田熊 一徹(大阪大学大学院歯学研究科 薬理)

山田 清文(名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学・附属病院薬剤部)

A-16 腫瘍切除後に認められるうつ様行動におけるプロスタノイドシグナルの関与

○尾中 勇祐¹⁾、新谷 紀人²⁾、吾郷 由希夫³⁾、中澤 敬信⁴⁾、米山 雅紀¹⁾、山口 太郎¹⁾、橋本 均^{2,5,6,7)}、萩田 喜代一¹⁾

1) 摂南大・薬・薬理、2) 大阪大・薬・神経薬理、3) 大阪大・薬・薬剤、4) 大阪大・歯・薬理、
5) 大阪大院・連合小児発達・子どものこころせ、6) 大阪大院データビリティフロンティア機構、
7) 大阪大・院医・分子医薬

A-17 マウスの反復社会挫折ストレスにおける脳内のプロスタグランジン E₂ 産生のメカニズムとその役割

○轟 翔、北岡 志保、古屋敷 智之

神戸大・院医

A-18 成熟マウスの前頭前皮質における Reelin シグナルの活性化が MK801 誘発性行動障害に与える影響

○澤幡 雅仁¹⁾、浅野 裕樹¹⁾、永井 拓¹⁾、河野 孝夫²⁾、鍋島 俊隆³⁾、服部 光治²⁾、山田 清文¹⁾

1) 名古屋大・院医・医療薬学、2) 名古屋市立大・薬・病態生化学、
3) 藤田医科大・院保健・先進診断システム探索研究部門

A-19 ラット脳海馬と視床下部内におけるグルタミン酸受容体 mRNA の左右非対称性の検討

○及川 弘崇¹⁾、宮崎 翔平¹⁾、藤川 隆彦^{1,2,3)}

1) 鈴鹿医療科学大、2) 鈴鹿医療科学大・院薬、3) 三重大・院医

A-20 フェルラ酸は 5-HT_{1A} 受容体の部分作動薬活性により異常行動を改善する

○荒木 良太¹⁾、榎本 太一¹⁾、田中 翔斗¹⁾、安測 顕¹⁾、池谷 真里那¹⁾、村瀬 仁章²⁾、河合 健太郎³⁾、中谷 尊史¹⁾、矢部 武士¹⁾

1) 摂南大・薬・複合薬物解析、2) 株式会社グローピア、3) 摂南大・薬・医薬品化学

座長：大野 行弘(大阪薬科大学 薬品作用解析学研究室)
川畑 篤史(近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室)

B-01 6-ヒドロキシドパミン線条体内投与によるドパミン神経細胞障害に対する
β3受容体作用薬の影響

○吉岡 靖啓、浅貝 健介、一色 拳人、基山 清乃、山室 晶子、石丸 侑希、前田 定秋
摂南大・薬・薬物治療

B-02 アストロサイトにおける peroxiredoxin 6 の過剰発現が神経細胞に及ぼす影響

○山室 晶子、伊吹 美紗、川嶋 亮平、若林 崇、石丸 侑希、吉岡 靖啓、前田 定秋
摂南大・薬

B-03 Organophosphate paraoxon induces kinetic tremor by activating the inferior
olive neurons

○伊波 アルベスイーゴル、國澤 直史、加藤 将貴、清水 佐紀、大野 行弘
大阪薬大・薬・薬品作用解析学

B-04 パクリタキセル誘発性末梢神経障害のリスク因子解析：
がんの種類による違いと加齢の影響について

○宮本 朋佳^{1,2)}、平本 志於里¹⁾、貫戸 綾乃¹⁾、富士谷 昌典²⁾、畑中 重克³⁾、
坪田 真帆¹⁾、小泉 祐一²⁾、川畑 篤史¹⁾
1)近畿大・薬、2)府中病院・薬剤、3)府中病院・検査

B-05 蝸牛マクロファージの活性化は内有毛細胞-蝸牛神経間のシナプス数を減少させる

○山口 太郎、米山 雅紀、尾中 勇祐、荻田 喜代一
摂南大・薬・薬理

座長：新谷 紀人(大阪大学大学院薬学研究科 神経薬理学研究室)
藤井 正徳(京都薬科大学 薬学部 薬理学研究室)

B-06 高脂肪食を負荷した糖尿病モデルマウスで生じる網膜神経細胞の脱落に対する
アペリン受容体アゴニストの保護作用

○柴垣 郁弥、石丸 侑希、赤井 喜一、徳田 華奈、山室 晶子、吉岡 靖啓、前田 定秋
摂南大・薬

B-07 網膜色素上皮細胞の上皮間葉転換における GDF15 の役割

○石田 和嗣、高橋 慶、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰
岐阜薬科大・薬・薬効解析

B-08 新規抗がん剤候補化合物 ACA-28 依存的なアポトーシス誘導機構における MAPK Phosphatase DUSP6 の役割

○水野 綾美、宮本 理穂、神田 勇輝、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子
近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬

B-09 卵巣摘出マウスにおけるパクリタキセル誘発性末梢神経障害の増悪：HMGB1 の関与について

○平本 志於里¹⁾、貫戸 綾乃¹⁾、宮本 朋佳^{1,2)}、坪田 真帆¹⁾、小泉 祐一²⁾、西堀 正洋³⁾、川畑 篤史¹⁾
1)近畿大・薬・病態薬理、2)府中病院・薬剤、3)岡山大院・医歯薬・薬理

B-10 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)トランスジェニックマウスにおけるうつ様行動解析

○大塚 青海、石井 晋暉、奥島 千裕、橋川 直也、橋川 成美
岡山理科大・理

学生優秀発表賞5 YIA 14:00～15:12

座長：天ヶ瀬 紀久子(立命館大学 薬学部 病態薬理)
白川 久志(京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析)

B-11 低温培養はアストロサイト由来エリスロポエチンを増加させ神経細胞死を抑制する

○鳥内 皐暉¹⁾、垣田 博樹²⁾、岩城 壮一郎¹⁾、田村 哲也³⁾、山田 恭聖²⁾、青山 峰芳¹⁾
1)名古屋市立大・院薬・病態解析、2)愛知医科大・周産期母子医療セ・新生児集中治療、
3)名古屋市立大・院医・麻酔危機管理医

B-12 SNARE タンパク質 Syntaxin 3 によるセロトニントランスポーターの機能制御

○本池 芹佳^{1,2)}、田口 慧¹⁾、卜部 智晶^{1,3)}、原田 佳奈¹⁾、秀 和泉¹⁾、田中 茂¹⁾、入船 正浩²⁾、酒井 規雄¹⁾
1)広島大・院医歯薬保健・神経薬理学、2)広島大・院医歯薬保健・歯科麻酔学、
3)広島大・院医歯薬保健・麻酔蘇生学

B-13 AiCE マウスを用いた片側感覚刺激後における左右半球比較による樹状突起スパインの可塑的変化の観察

○宮澤 徹¹⁾、久保山 和哉^{1,2)}、井上 貴文³⁾、橋本谷 祐輝⁴⁾、伊藤 拓矢¹⁾、鈴木 東介¹⁾、鉄澤 愛彩¹⁾、木下 諒¹⁾、大塚 庸介¹⁾、高良 廉¹⁾、Gusain Pooja²⁾、多和田 真聖¹⁾、狩野 方伸⁴⁾、山田 麻紀^{1,2)}
1)徳島文理大・香川薬学・薬理、2)徳島文理大・香川薬学・神経科学、
3)早稲田大・院先進理工先端生命医科学、4)東京大院医神経生理

B-14 酪酸グリセロールエステルによる老化予防の可能性

○竹野 恭子¹⁾、吉井 美智子²⁾、小澤 光一郎²⁾
1)広島大・薬、2)広島大・院医

B-15 ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬は脳内炎症の抑制を介して末梢炎症誘発性の認知機能障害を改善する

○高田 直樹、中村 庸輝、中島 一恵、森岡 徳光
広島大・院医歯薬保健

B-16 ブチリルコリンエステラーゼの阻害は脳内アセチルコリンとグレリンシグナルの促進により認知機能障害を改善する

○塚田 信司¹⁾、東野 功典¹⁾、国本 寿美子¹⁾、田邊 航¹⁾、山口 拓海²⁾、中川 晋作^{2,3)}、Greig Nigel⁴⁾、橋本 均^{1,5,6,7,8)}、吾郷 由希夫^{2,3)}
1)大阪大・院薬・神経薬理、2)大阪大・院薬・薬剤、3)大阪大・国際医工情報センター、4)NIH/NIA、5)大阪大・院連合小児発達、6)大阪大・データビリティフロンティア機構、7)大阪大・先導的学際研究機構、8)大阪大・院医・分子医薬

細胞・その他 15:24～16:12

座長：森 秀治（就実大学 薬学部 医療薬学部門・生体情報学研究室）
北谷 和之（摂南大学 薬学部 薬効薬理学研究室）

B-17 AGEs と炎症関連分子の共存が炎症反応に与える変化の検討

○渡邊 政博¹⁾、豊村 隆男¹⁾、和氣 秀徳²⁾、劉 克約²⁾、勅使川原 匡²⁾、高橋 英夫³⁾、西堀 正洋²⁾、森 秀治¹⁾
1)就実大・薬、2)岡山大・院医歯薬、3)近畿大・医

B-18 新規 ERK シグナル調節薬 ACA-28 が多様な ERK 活性化癌細胞に対して ERK 依存的細胞死を引き起こす分子機構についての解析

○濱田 直弥¹⁾、佐藤 亮介¹⁾、高崎 輝恒¹⁾、田邊 元三²⁾、杉浦 麗子¹⁾
1)近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学、2)有機薬化学

B-19 セラミドによるプログラム化ネクロシス誘導と機序の解明

○北谷 和之、今津 純平、岩津 琴音、山本 雄大、松田 将也、奈邊 健
摂南大・薬

B-20 運動持久力の新規評価系の構築

○村居 宏樹、安田 健一郎、菅野 篤信、上野 海、居場 嘉教
摂南大・理工・病態薬理

座長：田中 智之(京都薬科大学 薬学部 薬理学研究室)
奈邊 健(摂南大学 薬学部 薬効薬理学研究室)

C-01 スギ花粉症に対する舌下免疫療法 (SLIT) における制御性 T 細胞サブセットおよび制御性 B 細胞の解析

○松田 将也¹⁾、寺田 哲也²⁾、稲葉 美樹¹⁾、濱口 淳平¹⁾、竹本 直樹¹⁾、北谷 和之¹⁾、河田 了²⁾、奈邊 健¹⁾

1) 摂南大・薬・薬効薬理、2) 大阪医大・耳鼻咽喉科・頭頸部外科

C-02 慢性消化器症状における TLR4 と NOD2 の発現量相関性について

○東 泰孝

大阪府大・獣医・薬理

C-03 野ブドウ蔓に見出した花粉症感受性遺伝子発現抑制活性

○水口 博之¹⁾、Islam Rezwanul²⁾、湧川 朝治²⁾、綿野 智一¹⁾、道永 昌太郎¹⁾、池田 久³⁾、藪本 雅巳⁴⁾、武田 憲昭⁵⁾、福井 裕行^{4,5)}

1) 大阪大谷大・薬、2) 徳島大・院医歯薬、3) (株) Nab、4) 錦秀会、5) 徳島大・院医歯薬

C-04 アトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚細胞から遊離される起痒物質の探索

○藤井 正徳、中嶋 雅幸、櫻井 千浩、田中 智之

京都薬科大

C-05 AMP 活性化キナーゼによるマウスマスト細胞の脱顆粒応答の抑制

○田中 智之¹⁾、兵頭 奈穂²⁾、安藤 里佳²⁾、井谷 光明²⁾、古田 和幸³⁾

1) 京都薬科大、2) 岡山大・薬、3) 岡山大・院医歯薬

学生優秀発表賞 3 YIA 11:10~12:10

座長：笠井 淳司(大阪大学大学院薬学研究科 神経薬理学研究室)
永井 拓(名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学・附属病院薬剤部)

C-06 レベチラセタムの新規標的タンパク質の同定：FosL1 活性抑制による TNF- α 発現の制御

○新留 康詞¹⁾、谷口 瑠梨¹⁾、山崎 岳²⁾、石原 康宏¹⁾

1) 広島大・院統合生命科学・生命医科学、2) 広島大・院統合生命科学・生命環境総合科学

C-07 ミクログリアにおける核内受容体 REV-ERBs の炎症制御機構の解明

○児玉 景太郎¹⁾、鶴田 真帆²⁾、武村 昌俊²⁾、岩本 桃華²⁾、中村 庸輝¹⁾、中島 一恵¹⁾、森岡 徳光¹⁾

1) 広島大・院医歯薬保健、2) 広島大・薬

C-08 TRPV4 開口はミクログリアの活性化状態を抗炎症型へ分極させる

○栗田 沙織、富澤 恵里、三宅 崇仁、永安 一樹、白川 久志、金子 周司
京都大・院薬・生体機能解析

C-09 ミクログリアに対する骨髄造血幹細胞由来ミクログリア様細胞から分泌される TGF- β 1 の作用解析

○黒田 絵莉子¹⁾、西村 周泰²⁾、戸田 侑紀¹⁾、芦原 英司¹⁾、高田 和幸²⁾
1)京都薬科大・薬・病態生理、2)京都薬科大・薬・統合薬科

C-10 TGF- β シグナルによるグリオーマ進展制御における Smurf2 リン酸化修飾の関与

○平岩 茉奈美^{1,2)}、深澤 和也^{1,2)}、北口 裕香^{1,2)}、山田 孝紀¹⁾、金田 勝幸²⁾、平尾 敦³⁾、
檜井 栄一¹⁾
1)岐阜薬科大・薬理、2)金沢大・院薬・薬理、3)金沢大・がん研・遺伝子染色体

学生優秀発表賞6 YIA 14:00~15:00

座長：東 泰孝(大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻応用薬理学教室)
中澤 敬信(大阪大学大学院歯学研究科 薬理)

C-11 ライソソームの正常機能を保証する V-ATPase の分子生物学的解析

○岡部 康教、森原 啓文、友田 紀一郎、朝日 通雄
大阪医科大・医・薬理

C-12 炎症性腸疾患に関連するユビキチンリガーゼ RNF183はリソソームでの DR5 の分解および TRAIL によって誘導されるカスパーゼの活性化を促進する

○呉 艶、岡元 拓海、今泉 和則、金子 雅幸
広島大・院医

C-13 オートファジー関連因子 Atg1 の MAPK 経路および Ca²⁺/カルシニューリンシグナル制御因子としての新たな働き

○嶋田 絵理香、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子
近畿大・薬

C-14 Identification of miRNA regulating the expression of cancer-type amino acid transporter LAT1 : its potential as an antionco-miRNA

○劉 星明¹⁾、大垣 隆一¹⁾、岡西 広樹¹⁾、奥田 傑¹⁾、金井 好克^{1,2)}
1)大阪大・院医・生体システム薬理、2)大阪大・先導的学際研究機構・生命医科学融合フロンティア研究部門

C-15 大規模医療情報データベースを活用したシスプラチン誘発腎障害に対する新規予防薬の探索とその有効性の検証

○前川 晃子¹⁾、合田 光寛²⁾、吉田 愛美¹⁾、神田 将哉^{1,2)}、生田 賢治²⁾、新村 貴博¹⁾、
石澤 有紀³⁾、座間味 義人^{1,2)}、中馬 真幸⁴⁾、武智 研志⁴⁾、濱野 裕章²⁾、岡田 直人²⁾、
堀ノ内 裕也³⁾、池田 康将³⁾、石澤 啓介^{1,2)}
1)徳島大・院医歯薬・臨床薬理学、2)徳島大学病院・薬剤部、3)徳島大学 AWA サポートセ、
4)徳島大学病院・臨床試験管理セ

C-16 Advanced glycation end products の細胞内取り込みによる血管新生の調節機構

○西中 崇¹⁾、山崎 由衣¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、和氣 秀徳²⁾、森 秀治³⁾、西堀 正洋²⁾、
高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医、2)岡山大・院医歯薬、3)就実大・薬

C-17 低酸素誘発肺高血圧症におけるミトコンドリア Na⁺/Ca²⁺ 交換輸送体の関与

○喜多 紗斗美^{1,2)}、田頭 秀章²⁾、喜多 知²⁾、品山 愛¹⁾、岩本 隆宏²⁾

1)徳島文理大・薬、2)福岡大・医

C-18 マウス向血栓性に三種混合麻酔が与える影響

○狩野 泰輝、菅沼 由唯、池本 和久、一瀬 千穂、近藤 一直

藤田保健衛生大・医

C-19 ラットにおける抗腫瘍薬誘発肝類洞閉塞症候群モデルの作製

○見尾 光庸、原(野上) 愛、神田 翔磨、河村 忠、塚正 洋平、岡本 文

就実大・薬

C-20 貧血はネフロン数減少に伴う腎代償機能の発揮を妨げる

○中野 大介、西山 成

香川大・医

A series of horizontal dashed lines for writing.

A会場

1階 メディックスホール

Nrf2活性化薬によるミクログリア活性化の抑制作用とその機序解析

○泉 安彦¹⁾、立本 愛¹⁾、有福 萌波²⁾、堀内 奈緒子¹⁾、杉山 峰是¹⁾、井川 紗央里¹⁾、
八巻 耕也¹⁾、久米 利明^{2,3)}、小山 豊¹⁾

1) 神戸薬科大・薬・薬理、2) 京都大・院薬・薬品作用解析、3) 富山大・院医歯薬・応用薬理

【目的】抗酸化酵素の発現に関与する Nrf2-ARE 経路の活性化は抗炎症的に作用することが知られている。しかし、その機序には不明な点が多い。本研究では、我々が化合物ライブラリーより独自に見出した Nrf2 活性化薬 TPNA10168 がミクログリアの炎症性活性化を抑制するか検討し、その機序について解析を行った。

【方法】細胞はマウス由来ミクログリア細胞株 BV2 およびラット胎仔由来中脳初代混合培養系を用いた。炎症関連遺伝子の mRNA 定量は、real-time PCR により行った。細胞内活性酸素種 (ROS) 量の測定には、蛍光プローブとして H₂DCFDA を用いた。一酸化窒素 (NO) 遊離量は、Griess 法により測定した。転写因子 Nrf2 とゲノム DNA との相互作用は、クロマチン免疫沈降 (ChIP) アッセイにより検討した。

【結果】BV2 細胞にインターフェロン (IFN) γ を処置すると 6 時間後には、インターロイキン (IL)-1 β 、IL-6、腫瘍壊死因子 (TNF) α および誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の mRNA 発現が上昇した。TPNA10168 (1-10 μ M) の同時処置は、これらの炎症関連遺伝子の発現を濃度依存的に抑制した。同様に、中脳初代混合培養系における IFN γ /

リポ多糖 (LPS) 処置による NO 遊離および活性化ミクログリアの指標である Iba1 免疫反応性上昇もまた、TPNA10168 (3-30 μ M) の同時処置により抑制された。この機序を解析するために、BV2 細胞における細胞内 ROS 量を検討したが、IFN γ 処置 6 時間までは有意に上昇しなかった。次に、Nrf2 が結合すると報告のあった IL-1 β と IL-6 遺伝子の 5' 非翻訳領域に、TPNA10168 により核内移行した Nrf2 が結合するか検討した。ChIP アッセイにより TPNA10168 は、IL-6 遺伝子のプロモーター領域への Nrf2 の結合を促進するが、IL-1 β 遺伝子のエンハンサー領域への Nrf2 の結合には影響しないことが分かった。

【考察】以上の結果より、Nrf2 活性化薬 TPNA10168 は、ミクログリアの炎症性活性化を抑制することが明らかになったが、その機序に細胞内 ROS の除去が関与しないことが示唆される。また、TPNA10168 による IL-6 mRNA の発現低下には、Nrf2 による直接的な転写抑制が関与する可能性も考えられる。

エンドセリン ET_B 受容体を介するアストロサイト Na-K-Cl 共輸送体 -1 (NKCC1) の発現増加

○小山 豊¹⁾、濱田 靖祥¹⁾、井高 佐知子¹⁾、長田 彩夏¹⁾、道永 昌太郎²⁾

1) 神戸薬科大・薬、2) 大阪大谷大・薬

【目的】脳卒中や外傷的脳損傷 (TBI) などの急性期に生じる脳浮腫は、致命的な病態であるにも関わらず、未だ効果的な薬物治療は開発されていない。Na-K-Cl 共輸送体 -1 (NKCC1) は、アストロサイトに発現するイオン輸送体で、脳損傷時には発現が増加し、これが脳浮腫の発生に関与する。我々は既に、アストロサイトのエンドセリン ET_B 受容体の刺激が、TBI による脳浮腫形成に関わることを明らかにした (Michinaga et al., J Neurotrauma (2018) 35: 1481-1494)。そこで今回、ET_B 受容体を介する脳浮腫発生機構を明らかにする目的で、アストロサイトの NKCC1 発現に対するエンドセリン (ET) の作用を検討した。

【方法】培養アストロサイトは生後 1 日齢の Wistar 系ラット大脳皮質より調製した。NKCC1 の mRNA 量は定量的 PCR で、タンパク量はイムノプロットで測定した。マウス TBI モデルは、Fluid Percussion Injury (FPI) 誘発装置 (AmScien Instruments 社) を用い作成した。脳浮腫は、組織水分含量の測定で評価した。

【結果】ET-1 (100 nM) は、培養アストロサイトにおいて NKCC1 の mRNA およびタンパク発現を増加させた。一方、NKCC2 は ET-1 処置により増加を示さなかった。

ET_B 受容体刺激薬 Ala-ET-1 も、培養アストロサイトの NKCC1 mRNA 発現を増加させた。NKCC1 発現に対する ET-1 の作用は、ET_B 受容体拮抗薬 BQ788 (1 μ M) により減弱したが、ET_A 拮抗薬 FR139317 (1 μ M) では影響されなかった。マウス大脳への FPI は、損傷半球での ET-1 発現を増加させた。FPI による大脳皮質の水分含量増加に対し、BQ788 (15 nmole/day) の脳室内投与は、これを抑制した。FPI はマウス大脳の NKCC1 発現を増加させたが、この作用は BQ788 の脳室内投与により減弱した。

【考察】以上の結果は、TBI での NKCC1 増加におけるアストロサイト ET_B 受容体の関与を示唆する。

○山田 大祐¹⁾、土佐 郁恵¹⁾、塚本 俊平¹⁾、米田 幸雄^{2,3)}、宝田 剛志¹⁾

1)岡山大・院医歯薬、2)大阪大・歯、3)予防薬理学研究所

神経変性疾患における mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) の病態生理学的な役割に関する報告は多いが、病態時にどのような分子が神経細胞の mTORC1 の制御に重要かについては解明されていない。今回、我々は solute carrier family 38a member 1 (SNAT1, *Slc38a1*) が神経において、mTORC1 を正に制御していることを明らかにした。*Slc38a1*^{flax/flax} マウスと *Synapsin I-Cre* マウスをかけ合わせることで神経細胞特異的に *Slc38a1* が欠損したマウスを作成した。脳梗塞モデルとして middle cerebral artery occlusion (MCAO) モデルを用いて解析を行った結果、2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) あるいは MAP2 陰性領域が *Slc38a1* の欠損によって縮小した。また、mTORC1 の標的分子である p70S6K1 のリン酸化の上昇とラパマイシンによる治療効果が MCAO モデルで観察された。興味深いことに、in vitro の実験結果から、オートファジー阻害剤が SNAT1 欠損時の神経保護作用を消失させることも判明した。以上の結果から、SNAT1 は mTOR- オートファジー経路を介して虚血時の脳障害を促進していることが明らかとなった。

○那須 隆斗、郡山 恵樹

鈴鹿医療科学大

【目的】 Sigma-1 受容体は神経保護や分子シャペロンとして機能しており、成長とともに発現が減少することが知られている。ほ乳類の中枢神経再生は新生期において比較的容易であるが、成熟期には極めて困難となる。また、中枢神経再生可否決定を制御する因子は見つかっておらず、この因子の探索は難治性神経変性疾患の治療につながると思っている。そこで、本研究では成長に伴う中枢神経再生能力の低下と Sigma-1 受容体発現量の低下に着目し、中枢神経再生における Sigma-1 受容体の役割の解明を目的とした。

【方法】 本研究では Sigma-1 受容体の中枢神経再生への寄与をヒト神経芽細胞腫 (SH-SY5Y 細胞) とマウス視神経損傷モデルを用いて調べた。Sigma-1 受容体アゴニストのフルボキサミン (FLV) と PRE-084、アンタゴニストの NE-100 を用いて Sigma-1 受容体刺激の神経軸索伸長への影響を精査した。また、Sigma-1 受容体は脳由来神経栄養因子受容体である TrkB と相互作用し、活性化することが知られている。そこで、FLV による Sigma-1 受容体刺激を介した TrkB のリン酸化をウエスタンブロットで解析した。軸索伸長と TrkB の活性化への Sigma-1 受容体の必要性を検討する為、Sigma-1 受容体の mRNA 特異的

な siRNA を用いてノックダウン実験を行った。Sigma-1 受容体を介した視神経再生を確認するため、C57BL/6 雄 9 週齢マウスを用いて視神経損傷モデルを作成した。対照群と FLV 眼球内投与群を作成し視神経再生の程度を細胞内輸送トレーサーであるコレラトキシン B を投与し、その抗体を用いて確認した。次に、siRNA 処理したマウスに FLV を眼球内投与し、Sigma-1 受容体を介した視神経再生が抑制されるか確認した。

【結果】 SH-SY5Y 細胞において、Sigma-1 受容体アゴニストによる軸索伸長が認められ、それらはアンタゴニストの NE-100 及び siRNA によって抑制された。また、Sigma-1 受容体の刺激によって、TrkB のリン酸化の上昇が認められ、siRNA によって抑制された。マウス視神経損傷モデルにおいて、FLV の眼球内投与は著しい視神経再生が確認された。またそれは、siRNA 処理により抑制された。

【結論】 Sigma-1 受容体は TrkB 受容体の活性化を介して中枢神経再生に関与することが示唆された。このことから、Sigma-1 受容体の刺激は難治性神経変性疾患治療に役立つと考えられる。

○木口 倫一、雑賀 史浩、松崎 伸介、岸岡 史郎
和歌山県立医科大・医・薬理

痒みは皮膚における有害刺激を排除するための警告系であるが、難治性の痒みは生活の質を著しく損なう。最近の研究から生理的な痒みの伝達機構に関する理解は進展しているが、難治性の痒みの分子基盤は殆ど明らかにされていない。本研究では、乾癬モデルマウスの痒みを担う脊髄内調節機構に着目し、痒み応答ニューロンおよびグリア細胞の関与について検討した。

剃毛した C57BL6J マウスに 5% イミキモドクリーム (IMQ) を反復塗布することにより、乾癬様の皮膚症状とともに持続的な痒み(引っ掻き)行動が誘発された。IMQ 塗布後の脊髄において、Iba1 陽性ミクログリアの顕著な活性化が認められ、さらに炎症性ミクログリアと関連の深いサイトカインや転写因子等の遺伝子発現増加が観察された。また痒み関連分子であるガストリン放出ペプチド (GRP) およびその受容体 (GRPR) の遺伝子発現も、IMQ 塗布後の脊髄において発現増加していた。IMQ 誘発性の引っ掻き行動は、化学遺伝学的手法 (Gi-DREADD) による GRP 産生ニューロンの抑制またはサポリン標識ボンベシンによる GRPR 陽性ニューロンの破壊により減弱した。

これらの結果より、乾癬の痒みには脊髄における GRP-

GRPR システムが重要な役割を果たしており、さらにその機能は活性化ミクログリアや炎症性因子によって修飾されている可能性が考えられる。

A-06

有機ゲルマニウム化合物 repagermanium は H₂S により誘起される Ca_v3.2 T 型カルシウムチャネル活性上昇とマウスにおけるアロディニアを直接的に阻害する

○小池 寧々¹⁾、杉本 果歩¹⁾、増田 寛志¹⁾、島田 康弘²⁾、佐藤 克行²⁾、中村 宜司²⁾、山口 浩明³⁾、田邊 元三⁴⁾、丸本 真輔⁵⁾、笠波 嘉人¹⁾、関口 富美子¹⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬・病態薬理、2) (株)浅井ゲルマニウム研究所、3)山形大・院医、4)近畿大・薬・有機化、5)近畿大・共同利用セ

有機ゲルマニウム化合物 repagermanium (poly-trans-[(2-carboxyethyl)germassequioxane]) は、水溶液中では 3-(trihydroxygermyl)propanoic acid (THGP) に水解されて骨粗鬆症、痛み、炎症、熱傷などを抑制するが、その作用機序は不明である。気体メディエーターの H₂S は、生体内において cystathionine-γ-lyase (CSE) などの酵素により産生され、一次知覚神経に発現する Ca_v3.2 T 型 Ca²⁺ チャネルの活性を増強することで痛みの情報伝達を促進する。本研究では THGP が H₂S に直接作用するか否かを解析し、H₂S による Ca_v3.2 チャネル活性亢進と痛みの増強に及ぼす THGP の効果を検討した。H₂S 供与体である NaSH または Na₂S と THGP を混合し反応させた後、LC-MS/MS 法および ¹H-NMR 法によりスペクトル解析を行ったところ、THGP に S が取込まれた化合物を形成することが判明した。Ca_v3.2 発現 HEK293 細胞において、Na₂S は 10 μM で T 型 Ca²⁺ チャネルを介する膜電流 (T-currents) を劇的に増強したが、この効果は THGP 10 mM 存在下では消失した。マウスの足底内に Na₂S を

投与すると機械的アロディニアが認められ、これは THGP の腹腔内前投与あるいは THGP を Na₂S と混合し足底内に投与することで抑制された。次に、isoflurane 麻酔下でマウスの足底部を 52.5℃ の熱パッドに 25 秒間暴露し熱傷を誘発すると、持続的な機械的アロディニアが誘起されたが、これは THGP、T 型 Ca²⁺ チャネル阻害薬あるいは CSE 阻害薬を腹腔内投与することで抑制された。最後に、マウス足底組織中の CSE 発現量を Western blot で測定したところ、熱傷 4 時間後に劇的に増加していた。以上より、THGP は H₂S と直接反応することで H₂S による Ca_v3.2 のチャネル活性上昇と痛みの増強を抑制することが示唆された。また、熱傷を受けた組織では CSE の発現誘導に伴って増加した H₂S が Ca_v3.2 を介してアロディニアを誘起すると考えられ、THGP はこの内因性 H₂S を捕捉することで熱傷後のアロディニアを抑制することが示唆された。

A-07

脳卒中後疼痛における脳から脊髄に投射する orexin 神経系の関与

○松浦 渉、徳山 尚吾
神戸学院大・薬

【背景】脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain : CPSP) は、脳卒中後に生じる難治性の合併症として知られている。しかしながら、現行の治療法を用いても CPSP を根治させることが困難であるため、有効な治療戦略の開発が急務となっている。近年、orexin が脳卒中後に減少するとの報告などから、脳血管障害における orexin の役割が注目されている。さらに、脳から脊髄に投射する orexin 神経の欠損は、過剰な疼痛を惹起することや、脊髄に発現する orexin 受容体が、疼痛の制御に関与していることも示唆されている。そこで本研究では、CPSP における脳から脊髄に投射する orexin 神経系の関与について検討を加えた。【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用いた。未処置のマウスに逆行性神経トレーサーである 4% fluorogold を脊髄腔内投与し、視床下部において orexin-A との共局在を蛍光免疫組織染色法にて確認した。全脳虚血モデルマウスは 30 分間の両側総頸動脈結紮 (bilateral carotid arteries occlusion : BAO) によって作製した。BCAO 後の視床下部における prepro-orexin (orexin 前駆体) を real-time PCR 法にて測定した。マウス後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数は von Frey test を用いて評価した。Orexin-A

(50, 150 pmol/mouse) を脳室内投与後、60 分間疼痛評価を行った。SB334867 (orexin 1 受容体 (OX1R) アンタゴニスト; 15 nmol/mouse) の脊髄腔内投与は、orexin-A を投与する 30 分前に投与した。

【結果】視床下部において、fluorogold 陽性細胞の局在が認められ、orexin-A 陽性細胞と共局在した。BCAO 3 日後の視床下部において、prepro-orexin 発現の有意な低下が認められた。BCAO 3 日後の後肢において、機械的刺激に対するアロディニアが発現した。その機械的アロディニアは、orexin-A の前処置によって濃度依存的に有意に抑制され、orexin-A による抑制作用は、SB334867 の投与によって拮抗された。

【考察】CPSP の発症機序の一部に、脳から脊髄に投射する orexin-A/OX1R を介する機構の機能低下が示唆された。

A-08

視床 VPL 核内のニコチン性アセチルコリン受容体刺激による疼痛抑制作用へのモノアミン作動性神経系の関与についての検討

○金城 達弥¹⁾、福林 新¹⁾、御船 正樹¹⁾、佐治 英郎²⁾、上田 真史¹⁾

1) 岡山大・院医歯薬、2) 京都大・院薬

【目的】所属研究室では、ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)作動薬である5IAを視床後外側腹側(VPL)核に投与することにより、神経障害性疼痛抑制作用が発現することを見出している。しかし、その作用機序の詳細は不明である。本研究では、VPL核nAChRを介して発現する疼痛抑制作用の機序解明を目的とし、モノアミン作動性神経系の関与について検討を行った。

【方法】ラット脳切片を作製し、nAChRとセロトニン作動性神経のマーカーであるセロトニントランスポーター(SERT)、およびノルアドレナリン作動性神経のマーカーであるノルアドレナリントランスポーター(NET)を蛍光二重免疫組織染色した。共焦点顕微鏡を用いて、VPL核におけるそれぞれの蛍光シグナルの局在を評価した。視床VPL核(P: 2.4mm, L: 3.3mm, D: 6.5mm)に微小透析膜を挿入し、5IA(10,50nmol)投与後のシナプス間隙中のモノアミン濃度変化をマイクロダイアリシス法により測定した。Seltzerらの報告に基づいて作製した神経障害性疼痛ラットのVPL核に、5IA(10nmol)とセロトニン受容体拮抗薬であるメチセルジド(Met: 1~4nmol)の混合溶液を投与し、投与15~90分後に疼痛抑制作用を評価した。

【結果・考察】免疫組織染色の結果、nAChRとSERTおよびNETの蛍光シグナルに一致を認め、VPL核のセロトニン作動性神経とノルアドレナリン作動性神経にそれぞれnAChRが発現していることが示された。また5IA投与後、視床VPL核から回収した試料中のセロトニン濃度が用量依存的に上昇することを認め、5IA投与によりセロトニンが放出されることが示唆された。ノルアドレナリンおよびドパミンの濃度は、投与前後ともに検出限界以下であった。5IA投与によるセロトニン放出が示唆されたことから、疼痛抑制作用へのセロトニンの関与を調べるため、VPL核内への5IAとMetの混合投与を行った。VPL核内に5IAを単独投与したところ、投与15分後に有意な疼痛抑制作用が発現したが、Metと混合投与することで疼痛抑制作用が濃度依存的に減弱することが認められた。以上の結果より、VPL核のnAChRを介する疼痛抑制作用にはセロトニン作動性神経が関与することが示唆された。

A-09

ニコチン誘発振戦の薬理特性評価とドパミン神経系による発現調節

○加藤 将貴、國澤 直史、清水 佐紀、石倉 惟加、平田 捺稀、安永 美月、大野 行弘

大阪薬大・薬・薬品作用解析

ニコチンはタバコ葉に含まれるアルカロイドであり、ニコチン性アセチルコリン(nACh)受容体を介して様々な薬理作用を示す。我々はこれまで、ニコチン投与による振戦発現に関する研究を行い、ニコチンが $\alpha 7$ nACh受容体を介して延髄・下オリーブ核(IO)ニューロンを興奮させることで、律動的な動作時振戦を誘発することを明らかにしてきた(*Behav. Brain Res.*, 314, 173-180, 2016)。今回、ニコチン誘発振戦の薬理特性を評価する目的で各種抗振戦薬の作用を検討するとともに、ニコチン振戦の発現調節におけるドパミン神経系の役割について評価した。実験にはddY系雄性マウスを使用し、ニコチン(1mg/kg, i.p.)によって誘発される振戦に対する抗振戦薬およびドパミン受容体関連薬の作用を評価した。抗振戦薬の評価においては、ヒト本態性振戦治療薬のプロプラノロール、フェノバルビタール、ジアゼパムがいずれもニコチン誘発振戦を有意に抑制した。一方、パーキンソン病振戦の治療薬であるトリヘキシフェニジルやレボドパは有意な作用を示さなかった。次に、ドパミン受容体関連薬の作用を評価した結果、ドパミンD_{1/5}受容体拮抗薬SCH-23390はニコチン誘発振戦を有意に増強した一方で、D₃受容体拮抗薬U-99194は有意

な改善作用を示した。D₂受容体拮抗薬L-741, 626およびD₄受容体拮抗薬L-745,870は作用を示さなかった。また、D_{1/5}受容体作動薬SKF-38393はニコチン振戦を有意に抑制し、D₃受容体作動薬PD-128,907は有意に増強させたが、D₂受容体作動薬スマニロールは影響を及ぼさなかった。

以上より、ニコチン誘発振戦はヒト本態性振戦と薬理学的特性が類似しており、ニコチン振戦はヒト本態性振戦モデルとして有用であることが示された。また、ニコチンによる振戦発現に対してD_{1/5}受容体が抑制的に、D₃受容体が促進的に作用することが示唆された。

母体の ω -3不飽和脂肪酸摂取と仔の熱性けいれん感受性の関係

○川野 真慈¹⁾、馬場 直道²⁾、対馬 忠広²⁾、三澤 嘉久²⁾、石原 康宏¹⁾

1) 広島大・院総合科学・分子脳科学、2) 備前化成株式会社

【目的】 熱性けいれんは幼小児期においてのみ発症する、発熱を伴ったけいれん発作である。熱性けいれん感受性を決定する因子として、ナトリウムチャンネル(SCN1A, 2A)やGABA受容体(GABA_A γ 2)の変異、母体のストレスによる生後の児の血液中コルチゾールの増加などが報告されているが、母体の食生活と熱性けいれんの感受性についての報告はない。一方、不飽和脂肪酸摂取とてんかん発作については盛んに議論されており、 ω -3不飽和脂肪酸はけいれん発作の抑制に働くとの報告が多い。そこで本研究では、母体の ω -3脂肪酸摂取と仔の熱性けいれん感受性との関連を調べた。

【方法】 妊娠マウスを大豆油、綿実油(ω -3欠乏)、および綿実油とドコサヘキサエン酸(DHA)を含むAIN93Gで飼育した(大豆油群、綿実油群、綿実油+DHA群)。産まれた10~14日齢ICRマウスを用い、ヒートチャンバーを使用して熱性けいれんモデルを作製した。ビデオモニタリングによりけいれんの様子を観察し、Racineスコアの変法にてけいれんをスコアリングした。さらにガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて脳内DHAを定量した。

【結果】 熱性けいれん誘発と日齢との関係を調べたところ、10日齢、11日齢では熱性けいれんが良く誘導された一方、12日齢では誘導率が低下し、13日齢だとほぼすべての個

体でけいれんが観察されなかった。また、同日齢の個体においても、けいれん発症率は午後と比較して午前中の方が高かった。

特別食で飼育した母体から産まれた仔について、3群間で体重や体温変化に違いは認められなかった。また、産まれた仔の脳内DHA量を測定したところ、大豆油群と比べて綿実油群で有意に減少し、大豆油群と綿実油+DHA群では差は認められなかった。大豆油群と比較して綿実油群において、けいれん発症後無意識となる個体の割合が減少した。綿実油+DHA群でも同様に減少していたことから、綿実油には、けいれん重篤度を低下させる作用があると考えられる。また、綿実油群と比較して、綿実油+DHA群では、初めてForelimb clonusを起こした時の直腸温が有意に高かった。加えて、綿実油+DHA群では、体温が38.5℃を超えてから、Forelimb clonusを起こすまでの時間が有意に延長した。

【結論】 母体のDHAの摂取は、仔の熱性けいれんの潜時を延長させると考えられる。一方で、DHAは、熱性けいれんの重篤度(スコア)には影響しないことが示唆された。この知見はDHA摂取の熱性けいれん予防における重要性を示すものである。

○東 紘史、金城 俊彦、宇野 恭介、倉本 展行
 摂南大・薬

カリウムイオンはナトリウムポンプによって細胞外よりも細胞内に高濃度で存在する。活動電位発生時または静止状態の細胞膜において電位やりガンド等に依存して開口するカリウムチャンネル等の開口は再分極または過分極の原因となる。ミトコンドリア内膜におけるカリウムチャンネル開口やミトコンドリア膜透過性遷移孔(PTP)開口はミトコンドリア内膜の脱分極を誘導する。このミトコンドリアにおける脱分極が引き金となり、興奮性神経毒性が誘導される。本研究では、ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬であるミノキシジルが虚血性神経障害及び NMDA 誘発性神経障害に対して抑制的に作用したことを報告する。C57/BL6 雄性マウス 6 週齢に対して、中大脳動脈結紮術(MCAO)を 1 時間施し、梗塞付加直後にミノキシジルを静脈内投与した。その 24 時間後に脳を摘出し、TTC 染色にて梗塞巣の検出及び評価を行った。その結果、ミノキシジルの急速静注は MCAO 負荷 24 時間後に認められる非染色領域の縮小を認めた。また初代大脳皮質神経細胞に NMDA を暴露し、ミトコンドリア膜電位の測定及び MTT 還元能を測定することで、脱分極の程度及び細胞生存率の評価を行った。加えて、NMDA 受容体を引き金と

した、アポトーシス誘導因子であるカスパーゼ経路のタンパク質発現レベルの検出及び細胞内カリウムレベルの変動を測定した。以上のことから、NMDA はその濃度依存的にミトコンドリアの脱分極の程度を上昇し、それと相関するように神経細胞死が引き起こされた。一方で、ミノキシジルは細胞膜上の ATP 感受性カリウムチャンネルを開口させることにより、細胞内カリウムレベル減少を誘導した。それに伴い、ミトコンドリアマトリックスへのカリウム流入量を減少させることによって、ミトコンドリア膜電位の脱分極の程度を抑制し、ミトコンドリア由来神経細胞死を抑制したことが示唆された。

○二井谷 和平¹⁾、笹瀬 人暉²⁾、伊藤 志穂²⁾、矢口 立真¹⁾、堂本 将輝²⁾、和田 進太郎²⁾、
 泉 翔馬¹⁾、出山 諭司²⁾、檜井 栄一²⁾、金田 勝幸²⁾
 1)金沢大・薬・薬理、2)金沢大・院薬・薬理

てんかん患者においてストレスは発作誘発要因の一つであると考えられているが、その神経メカニズムは分かっていない。ストレス時には、内側前頭前野 (medial prefrontal cortex, mPFC) において noradrenaline (NA) の遊離が亢進すること、また、NA は mPFC V 層錐体細胞を興奮させることが報告されている。そこで本研究では、ストレスによるてんかん発作の誘発に、mPFC における NA 遊離が寄与している可能性について検討した。

雌雄 C57BL/6J マウス (4~6 週齢) から脳スライス標本を作製し、mPFC V 層錐体細胞からホールセルパッチクラム記録を行った。Picrotoxin (Pic, 30 μ M) による GABA 作動性神経伝達抑制下で NA (10 μ M) をバス適用すると、数分以内に持続性の脱分極とそれに伴う群発性活動電位からなる、てんかん発作様活動 (epileptiform activity, EA) が連続的かつ高頻度に誘導された。一方、Pic のみの適用では約 20 分後に散発的な EA が誘導された。EA は terazosin (5 μ M) の追加適用による $\alpha 1$ アドレナリン受容体 (AR) の阻害により抑制されたが、atipamezole (3 μ M)、あるいは、timolol (10 μ M) による $\alpha 2$ AR、あるいは、 β AR の阻害では抑制されなかった。

次に、雄性 C57BL/6J マウス (6~8 週齢) の両側 mPFC に Pic (0.1 nmol/side) を投与すると、Racine scale のステージ 3 (意思に反した立ち上がり行動を伴った前足のけいれん) 以上に相当するてんかん発作が観察されたが、その潜時は Pic と NA (10 nmol/side) の同時投与により有意に短縮した。この NA による潜時の短縮は、terazosin (7.5 nmol/side) の同時投与によって抑制された。さらに、片側 mPFC に Pic (0.1 nmol) と NA (10 nmol) を同時投与し、反対側から脳波記録を行ったところ、ステージ 3 のてんかん発作行動に伴う異常な脳波が観察された。

以上より、GABA 作動性神経伝達抑制下で NA は $\alpha 1$ AR を介して mPFC V 層錐体細胞に短潜時かつ高頻度の EA を誘導すること、また、NA は $\alpha 1$ AR を介して Pic 誘発てんかん発作の潜時を短縮することが明らかとなった。これらの結果から、ストレスによるてんかん発作の誘発促進に mPFC における $\alpha 1$ AR の活性化に伴う神経活動の異常な上昇が関与することが示唆された。

A-13

セロトニン神経伝達の亢進は悲観的な意思決定を改善した

○安藤 千紘¹⁾、西谷 直也^{1,2)}、高山 海都¹⁾、澁井 紀宏¹⁾、永安 一樹¹⁾、白川 久志¹⁾、金子 周司¹⁾
 1)京都大・院薬、2)北海道大・院医

【背景】うつ病患者の症状の一つとして、不運な結果を過大に評価してしまう傾向がある。近年、この悲観的な意思決定がセロトニン神経伝達の亢進/減弱により制御され得る可能性が示唆されているが、その詳細なメカニズムは未解明である。そこで本研究では、悲観的な意思決定を評価できる確率的逆転学習課題(PRL)を用いて、セロトニン神経伝達の寄与を薬理的に検討した。

【方法】摂食制限を行ったC57BL/6J系雄性マウスを使用した。PRLは餌ペレットを報酬として2レバーオペラント装置を用いて行った。訓練期間終了後、正しいレバーを押しても報酬が得られない確率(pPCR)を0, 0.1, 0.2, 0.3の各条件に設定し、薬物処置後に30分間のテストを行った。この際、悲観的な意思決定の指標として、正しいレバーを押したが報酬が得られなかった時、反対のレバーにシフトする割合(Negative Feedback Sensitivity; NFS)を比較した。薬物投与時の神経活動性の変化についてはc-fosの免疫染色により評価した。マウスのレバー選択パターンの一般化線形モデルによる分析は既報(Parker *et al.* 2016)に従って行った。

【結果】抗うつ薬であるCitalopram (10mg/kg, i.p.)を投与したところ、pPCR=0.1, 0.2の時のNFSが有意に低下した。また、pPCR=0.1におけるマウスのレバー選択パターンを一般化線形モデルにより分析したところ、現在の選択に対し3試行前の結果が与える影響が、Citalopram投与群で有意に増加していた。また、CitalopramによるNFS低下作用は、5-HT_{2A}アンタゴニストであるMDL100907 (0.5mg/kg, i.p.)の共処置により有意に減弱した。この時、内側眼窩前頭皮質におけるc-fos陽性細胞数が減少していたことから、この領域に5-HT_{2A}アゴニストであるTCB-2 (0.1μg/side, 両側)を局所投与したところ、対照群と比較してNFSが有意に低下した。

【考察】セロトニン濃度の一過性の上昇により、直近の結果だけでなく過去数回の結果を総合して判断を行う傾向が強くなり、直前の報酬が得られなかった結果に対する悲観的な意思決定が改善する可能性が示唆される。またこの効果は、内側眼窩前頭皮質の5-HT_{2A}受容体が介在している可能性が示唆される。

A-14

Possible involvement of homocysteine on neuronal leptin resistance in obesity

○Isnani Preninka Arini, Hosoi Toru, Yoshii Michiko, Ozawa Koichiro
 広島大・院医歯薬保健・治療薬効

【Background and purpose】Leptin is an anti-obesity hormone, known to control energy expenditure and food intake. Obesity patients are in a state of “leptin resistance”, which can not transduce leptin signal appropriately. In the previous study, our group reported that endoplasmic reticulum (ER) stress, which occurs through unfolded protein accumulation, may be one of the pathophysiological mechanisms of leptin resistance in obesity. In the previous study, increased level of homocysteine was suggested to cause ER stress. However, it is unknown whether homocysteine can increase leptin resistance in neuronal cells.

【Experimental procedures】We examined the effect of homocysteine and its related compounds on leptin signal and ER stress in SHSY5Y Ob-Rb neuroblastoma cells. Activation of leptin signaling and ER stress were analyzed by Western blotting analysis.

【Results and discussion】Treatment of homocysteine in SHSY5Y Ob-Rb cells inhibited leptin-induced STAT3 phosphorylation. Therefore, it is suggested that homocysteine may cause leptin resistance. In addition, when the expres-

sion levels of ER stress response genes were investigated, homocysteine increased them, suggesting that homocysteine may induce ER stress in neuronal cells. On the other hand, other compounds related to homocysteine such as methionine and cysteine, did not inhibit leptin signal. Also, they did not cause ER stress. Overall, it is suggested that one of the underlying mechanisms of neuronal leptin resistance would be mediated through homocysteine. As the homocysteine can also inhibit methylation reaction, it is in the underway analyzing the effect of methylation reaction on leptin resistance with respect to the action of homocysteine.

アデノ随伴ウイルスベクターを用いた全脳多重蛍光標識法の開発

○山浦 港生¹⁾、笠井 淳司¹⁾、丹生 美咲¹⁾、勢力 薫^{1,2)}、宮司 溪汰¹⁾、田沼 将人¹⁾、佐藤 大輝¹⁾、
彌永 祐輔¹⁾、橋本 均^{1,3,4,5,6)}

1)大阪大・院薬・神経薬理、2)大阪大・国際共創、3)大阪大・院連合小児・子どものこころせ、
4)大阪大・データビリティフロンティア機構、5)大阪大・先導的学際研究機構、6)大阪大・院歯・薬理

【背景】近年のイメージング技術の進歩により、脳全体の活性化した神経細胞を蛍光標識し、細胞単位の解像度でマッピングすることが可能になった。これにより、ある種の刺激に応答する脳内神経細胞の分布や数を全脳レベルで明らかにすることができるようになった。当研究室においても、これまでに構築した全脳を高精細に撮影することのできるFAST (block-face serial microscopy tomography) システムと、最初期遺伝子 (IEGs) レポーターマウスを用いて全脳活動マッピングを行い、ストレスに応答する脳部位の探索などを行ってきた。しかし、標識される細胞数の個体差が大きく、個体間の比較が困難になる場合があった。

【目的】そこで本研究では、標識効率などの個体差を補正可能な全脳活動マッピング用の蛍光多色標識ツールの開発を目指した。

【方法・結果】Cre 非発現細胞では赤色蛍光蛋白質 tdTomato または青色蛍光蛋白質 Tag-BFP と緑色蛍光蛋白質 mNeonGreen を同時に発現し、Cre 発現細胞であれば tdTomato または Tag-BFP のみを発現する2種のプラスミドを作製した。次に、全脳感染性アデノ随伴ウイルス (AAV) である AAV-PHP. eB のカプシドベクターを用

い、これらのコンストラクトを導入した AAV を作製した。作製した2種の AAV をそれぞれ C57BL/6J マウスに静脈投与し、3週間後に還流固定を行って脳を観察した。その結果、Cre を発現しないマウス脳内において tdTomato または Tag-BFP と mNeonGreen を同時に発現する多重蛍光標識神経細胞を検出した。一方、Cre を発現するマウス脳内において、tdTomato または Tag-BFP のみを発現する単色蛍光標識細胞を検出した。

【考察・展望】Cre 非発現細胞を2色で、Cre 発現細胞を1色で標識することにより、同一個体において、Cre 発現細胞数を AAV 感染細胞数で補正することが可能になった。これにより、これまで個体ごとのバラツキなどにより差の検出が困難であった個体間比較が容易になると考えられる。今後は、今回構築したレポーター遺伝子を神経種特異的なプロモーターで駆動する AAV を作製し、FAST システムを用いて、細胞種を区別した全脳多色活動マッピングを行っていきたい。

腫瘍切除後に認められるうつ様行動におけるプロスタノイドシグナルの関与

○尾中 勇祐¹⁾、新谷 紀人²⁾、吾郷 由希夫³⁾、中澤 敬信⁴⁾、米山 雅紀¹⁾、山口 太郎¹⁾、橋本 均^{2,5,6,7)}、萩田 喜代一¹⁾

1) 摂南大・薬・薬理、2) 大阪大・薬・神経薬理、3) 大阪大・薬・薬剤、4) 大阪大・歯・薬理、5) 大阪大院・連合小児発達・子どものこころせ、6) 大阪大院データビリティフロンティア機構、7) 大阪大・院医・分子医薬

【目的】 がん患者で認められる情動機能障害は、治療後も遷延することがあり、生活の質の低下につながる問題となっている。これまでに、我々は、マウスへのがん細胞の接種後、腫瘍の形成とともに社会性が低下することを明らかにしてきたが、本動物で認められる社会性の低下は、腫瘍切除後においても持続することを明らかにしてきた。一方で、我々は、複数の動物モデルにおいて、プロスタノイドシグナルとうつ様行動との関連を明らかにしてきた。今回は、腫瘍切除後のマウスが示すうつ様行動にプロスタノイドシグナルが関与するかどうかを明らかにすることを目的として、抗うつ薬およびプロスタノイド合成酵素の阻害薬を用いた行動薬理的解析を行った。

【方法】 実験には8～9週齢のBALB/c系雄性マウスを用いた。大腸がん細胞である colon 26 (1×10^7 cells/mL) は、腹部に皮下接種した。Colon 26接種後3日目に形成された腫瘍は、麻酔下にて外科的に切除した。腫瘍の切除後14日間、フルオキセチン (20 mg/kg) を経口投与し、最終投与の翌日に社会性行動試験を行った。また、腫瘍切除後4日目のマウス

に、cyclooxygenase (COX)-1、2および monoacylglycerol lipase (MAGL) の阻害薬である、SC-560 (10 mg/kg)、NS-398 (5 mg/kg) および JZL-184 (5 mg/kg) を単回腹腔内投与し、その30分後に社会性行動試験を行った。また、腫瘍切除後4日目のマウスの海馬を採取し、ウェスタンブロッティングによるCOXおよびMAGLの発現解析を行った。

【結果と考察】 フルオキセチン、SC-560およびJZL-184は、腫瘍切除後のマウスで認められる社会性の低下を有意に抑制したが、NS-398は何ら影響を与えなかった。また、腫瘍切除後マウスの海馬において、COX-1のみ発現量が有意に増加した。今回の結果から、腫瘍切除後に持続する社会性の低下は、抗うつ薬に反応するうつ様行動である可能性および、本うつ様行動にMAGLおよびCOX-1を介したPGシグナルが関与する可能性が示唆された。

マウスの反復社会挫折ストレスにおける脳内のプロスタグランジン E₂ 産生のメカニズムとその役割

○聶 翔、北岡 志保、古屋敷 智之
神戸大・院医

社会環境から受ける長期的または過剰なストレスは心理的・生理的機能の変容を引き起こし、うつ病などの精神疾患のリスク因子となる。我々は精神疾患のストレス病態のモデルであるマウスの反復社会挫折ストレスを用いて、反復ストレスが自然免疫分子である Toll 様受容体 (TLR) 2/4 を介して内側前頭前皮質のミクログリアを活性化し、炎症性サイトカインである IL-1 α と TNF- α の産生を介して社会忌避行動を誘導することを示した。また、反復ストレスにより炎症に関わる脂質メディエーターであるプロスタグランジン (PG) E₂ がその受容体 EP1 を介して内側前頭前皮質に投射するドーパミン経路を抑制し、社会忌避行動を誘導することを示した。本研究では、社会挫折ストレスによる脳内の PGE₂ の産生機序や TLR2/4 との関連性について調べた。社会挫折ストレスは腹側被蓋野を含む皮質下領域で PGE₂ 産生を増強すること、この PGE₂ 産生が COX1 欠損マウスや COX1 阻害薬 SC-560 を投与したマウスで消失することを見出した。この PGE₂ 産生は TLR2/4 欠損マウスでも消失することから、TLR2/4 の重要性が示された。脳内では、内因性カナビノイドの 2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) がモノアシルグリセロールリ

パーゼ (MAGL) により代謝されて生ずる遊離アラキドン酸を前駆体として PGE₂ が産生されることが報告されている。そこで MAGL 阻害薬 JZL184 を全身投与したところ、社会挫折ストレスによる皮質下領域での PGE₂ 産生が消失した。さらに JZL184 の全身投与により社会挫折ストレスによる社会忌避行動が消失した。以上の結果は、社会挫折ストレスが皮質下領域において MAGL-COX-1 経路を介して 2-AG 由来の PGE₂ 産生を増強して社会忌避行動を誘導すること、社会挫折ストレスによる MAGL-COX-1 経路の活性化に TLR2/4 が関与することを示唆している。

成熟マウスの前頭前皮質における Reelin シグナルの活性化が MK801 誘発性行動障害に与える影響

○澤幡 雅仁¹⁾、浅野 裕樹¹⁾、永井 拓¹⁾、河野 孝夫²⁾、鍋島 俊隆³⁾、服部 光治²⁾、山田 清文¹⁾

1)名古屋大・院医・医療薬学、2)名古屋市立大・薬・病態生化学、
3)藤田医科大・院保健・先進診断システム探索研究部門

【背景】 Reelin は細胞外マトリックスを構成する分泌性糖タンパクであり、成体脳では主に GABA 作動性介在ニューロンから分泌される。またシナプス可塑性や樹状突起形成、記憶・学習などの脳高次機能において重要な役割を果たすことが示唆されている。一方で、統合失調症患者においては RELN 遺伝子の変異、Reelin の mRNA やタンパク質レベルでの発現低下が報告がされており、Reelin の機能障害は統合失調症などの精神疾患との関連が考えられている。しかしながら、その詳細については不明である。

【目的】 Reelin と統合失調症との関連について調べるため、まず統合失調症において重要な役割を果たすと考えられている前頭前皮質 (medial prefrontal cortex: mPFC) に着目し、Reelin の前頭前皮質内投与が、NMDA 受容体の非競合的拮抗剤である MK801 の投与によって惹起される行動障害に対してどのような影響を与えるかについて検討した。

【方法】 300nM のマウス Reelin リコンビナントタンパクを7-8週齢の C57BL/6J 雄性マウスの mPFC に 0.5 μ l/site で両側に投与し、その5日後から行動解析を行った。行動解析は prepulse inhibition、新奇物体認識、Y-maze 試験の順に実施し、MK801 (0.15 mg/kg) は各試験の30分

前に腹腔内投与した。免疫組織化学的解析は MK801 の腹腔内投与2時間後に灌流固定を行い、常法に従って mPFC 内の c-Fos 陽性細胞数を計測した。

【結果・考察】 Reelin の前頭前皮質内投与は新奇物体認識試験において認められる MK801 誘発性の認知記憶障害を有意に改善した。一方、prepulse inhibition および Y-maze 試験においては影響を与えなかった。また、免疫組織化学的解析の結果、Reelin は、mPFC の特に infralimbic cortex で MK801 による c-Fos 陽性細胞数の増加を有意に抑制した。最後に受容体非結合型 Reelin (K2A Reelin、機能欠失型変異体) は新奇物体認識試験における MK801 誘発性の認知記憶障害に影響を与えなかった。以上の結果から Reelin の前頭前皮質内投与は MK801 により惹起された過剰な神経活動を抑制し、認知記憶障害を改善すると考えられる。

ラット脳海馬と視床下部内におけるグルタミン酸受容体 mRNA の左右非対称性の検討

○及川 弘崇¹⁾、宮崎 翔平¹⁾、藤川 隆彦^{1,2,3)}

1) 鈴鹿医療科学大、2) 鈴鹿医療科学大・院薬、3) 三重大・院医

【背景】 小動物の個性判別の定義は未だ明確にはなっていない。また小動物の個性と脳機能との関連についても、研究はされているものの個性の創発の直接的な証明はなされていない。また一方で、げっ歯類脳内でのグルタミン酸受容体左右非対称性が空間認知や作業記憶に影響を及ぼす報告がなされている。そこで本研究では、SD 系ラットを用いて高所恐怖に対する「耐性」と「脆弱性」を基に個性判定を行い、その個性別に学習能力の判定と学習を司る海馬とストレス応答を司る視床下部におけるグルタミン酸受容体の mRNA 発現量を右脳左脳別に解析した。

【方法】 高さを増加させた Elevated Beam Walking Test を3分間行い、橋上の滞在時間が90秒以内のものを Short stay type (S type)、橋上の滞在時間が121秒以上のものを Long stay type (L type) とした。その後個性別にラット用タッチスクリーン認識学習装置を用いた二画像弁別課題により学習能力を判定した。学習能力判定後に、ラット脳より学習を司る海馬とストレス応答を司る視床下部を摘出し、グルタミン酸受容体サブタイプの特異的 primer を用いた RT-qPCR 解析を行った。

【結果】 二画像弁別課題の結果より、高所に脆弱性がある

S type ラットの方が L type ラットと比較して誤タッチが少なく正答率が高いことが明らかとなった。その S type のラット脳では海馬において、右脳の GluR6 と KA1 のサブタイプの mRNA の発現量が左脳よりも有意に上昇しており、視床下部では左脳において NR1, GluR2, GluR3, GluR6 の mRNA の発現量が右脳よりも有意に上昇していた。L type のラット海馬においては右脳海馬内での GluR7 と mGluR3 の mRNA の発現量が左脳海馬と比較して有意に減少していた。また、L type ラットの右脳海馬内で NR1 の mRNA の発現量が左脳海馬と比較して有意に上昇していた。しかしながら、視床下部ではグルタミン酸受容体の mRNA の発現量の左右差は観察されなかった。

【まとめ】 高所ストレスに対して脆弱性を示すラットの学習能力が耐性のラットよりも良いことが観察され、それはグルタミン酸受容体の右脳左脳の発現量のバランスに起因することが推察できる。これは個性創発を解明するきっかけになる可能性がある。

フェルラ酸は5-HT_{1A}受容体の部分作動薬活性により異常行動を改善する

○荒木 良太¹⁾、榎本 太一¹⁾、田中 翔斗¹⁾、安瀨 顕¹⁾、池谷 真里那¹⁾、村瀬 仁章²⁾、河合 健太郎³⁾、中谷 尊史¹⁾、矢部 武士¹⁾

1) 摂南大・薬・複合薬物解析、2) 株式会社グロービア、3) 摂南大・薬・医薬品化学

【背景・目的】 高齢化が進む現代社会では認知症の患者数の増加が問題となっている。認知症への対策としては、記憶・認知機能障害などの中心症状が焦点となりがちであるが、幻覚、興奮、暴力行為などの精神・行動的な周辺症状(BPSD)も、患者や介護者の負担を増加させる点から無視できない症状である。一方でこれまでに臨床報告から、植物由来のフェニルプロパノイドであるフェルラ酸がBPSDに対して有効であることが示唆されている。しかしながら、その作用機序の詳細は明らかとなっていない。そこで本研究では *in vivo*、*in vitro* および *in silico* において、フェルラ酸の精神・行動異常改善作用に関する基礎的検討を行った。

【方法】 *In vivo* での検討では、幻覚剤 DOI (1 mg/kg) を投与したマウスおよび6週間隔離飼育したマウスを用いて行動薬理学的解析を行った。*In vivo* での検討では、5-HT_{1A}受容体およびレポーター遺伝子を発現させたCHO-K1細胞を用いて、5-HT_{1A}受容体刺激作用を評価した。また *In silico* において、ヒト5-HT_{1A}受容体とフェルラ酸との推定結合様式を解析した。

【結果・考察】 DOI投与マウスが示す首振り行動および隔離飼育マウスが示す多動や攻撃行動といった異常行動は、フェルラ酸 (50 mg/kg) を1時間前に経口投与することで抑制された。これら異常行動に対するフェルラ酸の作用は、5-HT_{1A}受容体アンタゴニストであるWAY-100635 (1 mg/kg) の前投与により消失した。こうした結果からフェルラ酸が5-HT_{1A}受容体を刺激する可能性が示唆された。そこで、5-HT_{1A}受容体を発現させたCHO-K1細胞を用いて5-HT_{1A}受容体刺激作用を評価したところ、フェルラ酸に5-HT_{1A}受容体部分作動薬活性が認められた。また、5-HT_{1A}受容体とフェルラ酸との推定結合様式を解析したところ、フェルラ酸は5-HT_{1A}受容体のオルソステリック部位と、芳香環で $\pi-\pi$ 相互作用し、ヒドロキシ基とカルボキシ基で水素結合するものと推定された。以上の結果から、フェルラ酸は5-HT_{1A}受容体に直接結合し部分作動薬として働くことで、異常行動を抑制している可能性が示された。こうした作用機序がBPSDの改善に寄与するものと考えられる。

B 会 場

2階 321 教室

B-01

6-ヒドロキシドパミン線条体内投与によるドパミン神経細胞障害に対するβ3受容体作用薬の影響

○吉岡 靖啓、浅貝 健介、一色 拳人、基山 清乃、山室 晶子、石丸 侑希、前田 定秋
 摂南大・薬・薬物治療

【目的】 パーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経細胞が変性・脱落することにより生じる運動機能障害を主症状とする神経変性疾患である。パーキンソン病患者の脳では、抗酸化物質であるグルタチオン(GSH)の量が著明に減少していることが報告されており、酸化ストレスがドパミン神経細胞死に関与すると考えられている。当研究室では、培養細胞を用いた検討から、ノルアドレナリンがアストロサイトのβ3受容体を刺激して細胞内GSH量を増加させ、神経細胞へのGSH供給を介して神経細胞を酸化ストレス誘発細胞死から保護することを明らかにしてきた。また、β3受容体作用薬SR58611Aの腹腔内投与により、マウス中脳腹側部でのGSH量が増加することを明らかにした。本研究では、パーキンソン病マウスモデルである6-ヒドロキシドパミン(6-OHDA)線条体内投与によるドパミン神経細胞死と運動機能障害に対するSR58611A投与の影響を検討した。

【方法】 8～10週齢の雄性C57BL/6Nマウスの右側線条体内に6-OHDAを投与した。ドパミン神経細胞数は、抗tyrosine hydroxylase (TH)抗体を用いて免疫組織化学的手法により検討した。また、マウスの運動機能はROTA-

ROD試験により評価した。

【結果及び考察】 6-OHDA投与2週間後において、投与側の黒質のTH陽性細胞数は対照群と比較して著明に減少し、マウスの運動機能の低下がみられた。この6-OHDA投与によるTH陽性細胞数の減少と運動機能障害は、SR58611A(5mg/kg)を腹腔内に1日1回3日間前投与することにより有意に抑制された。以上の結果より、SR58611Aは脳内GSH量を増加させることにより6-OHDA誘発ドパミン神経細胞死を抑制し、運動機能障害を抑制することが示唆され、β3受容体作用薬が、パーキンソン病の新規治療薬として有用である可能性が示唆された。

B-02

アストロサイトにおけるperoxiredoxin 6の過剰発現が神経細胞に及ぼす影響

○山室 晶子、伊吹 美紗、川嶋 亮平、若林 崇、石丸 侑希、吉岡 靖啓、前田 定秋
 摂南大・薬

【目的】 筋萎縮性側索硬化症(ALS)は運動神経細胞が選択的に障害される進行性の神経変性疾患である。ALSによる運動神経細胞の障害に関しては、活性化アストロサイトの増殖と炎症性サイトカインの産生の関与が指摘されているものの未だ詳細な機構は明らかにされていない。これまでに当研究室では、ALSモデルマウスの腰髄において、野生型マウスと比較してperoxiredoxin 6(PRDX6)が著明に増加していること、また、このPRDX6が活性化アストロサイトに高発現していることを見出してきた。近年、PRDX6はペルオキシダーゼ活性とphospholipase A₂(PLA₂)活性を示す構造を有していることから抗酸化作用と炎症惹起作用の2面性を有していることが報告されている。そこで本研究では、アストロサイトにおけるPRDX6の過剰発現とALSにおける脊髄運動神経細胞死との関連について明らかにするため、マウスアストロサイト株C8-D1A細胞およびマウス運動神経様細胞NSC-34細胞を用いて検討を行った。

【方法】 雄性のALSモデルマウスであるB6.SJL-Tg(SOD1-G93A)マウスおよび野生型マウスを灌流固定後、腰髄(L3-L5)を摘出し、免疫組織化学染色法を用いて

PRDX6発現分布について解析した。TNF-α mRNAの発現はreal-time RT-PCR法により解析した。リン酸化NF-κBは、Western blot法により解析した。細胞生存率については、MTT assayにより解析した。

【結果】

- ①免疫組織化学染色法により、野生型マウスと比較して20週齢のALSモデルマウスの腰髄でPRDX6がアストロサイトに高発現していることを確認した。
- ②C8-D1A細胞にPRDX6を高発現させるとNF-κBの活性化とTNF-α mRNAの有意な発現誘導がみられた。
- ③PRDX6のPLA₂活性阻害剤であるMJ33をPRDX6安定発現C8-D1A細胞に処置したところTNF-α mRNAの発現抑制作用がみられた。
- ④PRDX6安定発現C8-D1A細胞から調製した培養上清をNSC-34細胞に処置することにより細胞死が誘発された。

【考察】 以上の結果より、PRDX6を過剰発現したアストロサイトは、TNF-αなどの炎症性サイトカインの産生を介して神経細胞死を誘発する可能性が示唆された。

Organophosphate paraoxon induces kinetic tremor by activating the inferior olive neurons

○伊波 アルバスイーゴル、國澤 直史、加藤 将貴、清水 佐紀、大野 行弘
大阪薬大・薬・薬品作用解析学

Organophosphates (OPs) including parathion and malathion are widely used as pesticides. Although usually not harmful to humans, high doses and long-term exposition to OPs is toxic to humans, yielding a global health concern. OPs irreversibly inhibit cholinesterase and cause variety effects including cardiorespiratory hypofunction and motor excitements (e.g., hyperactivity, tremor and seizures). However, the mechanism underlying OPs-induced motor excitement symptoms remain unknown. Here, using paraoxon, the active metabolite of parathion, we investigated the tremorigenic mechanism of paraoxon by performing behavioral and immunohistochemical studies, in rodents. Paraoxon in doses of 0.15-0.6 mg/kg, i.p. caused a dose-dependent kinetic tremor. Expressional analysis of Fos protein, a biomarker of neural excitation, in 48 brain regions revealed that tremorigenic doses of paraoxon (0.6 mg/kg, i.p.) region specifically activates 6 brain regions (sensory cortex, hippocampus, dorsolateral striatum, globus pallidus, medial habenula and inferior olive). In addition, paraoxon-induced tremor and Fos expression in the inferior olive were diminished by mecamylamine

(nicotine receptor antagonist), but not by trihexyphenidyl (muscarinic receptor antagonist). Finally, electrical ablation of the inferior olive diminished paraoxon-induced tremor. The present results indicate that OPs elicit kinetic tremor primarily by activating inferior olive neurons via nicotinic acetylcholine receptors.

パクリタキセル誘発性末梢神経障害のリスク因子解析：
がんの種類による違いと加齢の影響について

○宮本 朋佳^{1,2)}、平本 志於里¹⁾、貫戸 綾乃¹⁾、富士谷 昌典²⁾、畑中 重克³⁾、坪田 真帆¹⁾、
小泉 祐一²⁾、川畑 篤史¹⁾

1)近畿大・薬、2)府中病院・薬剤科、3)府中病院・検査

【背景・目的】我々は、抗がん剤パクリタキセル (PCT)、ビンクリスチン、オキサリプラチン (OHP)、ボルテゾミブなどによって発症する化学療法誘発性末梢神経障害 (CIPN) に、damage-associated molecular patterns の1つである high mobility group box 1 (HMGB1) が関与することを明らかにしている。一方、OHP 投与患者における CIPN の重症化に関与する因子を後ろ向きコホート研究により解析し、軽度の肝障害が発症した患者ではその後 CIPN が増悪することを見出し、動物実験によって肝障害に伴う HMGB1 の細胞外放出が OHP による CIPN を促進することを明らかとした。今回は、PCT による CIPN 発症に対するリスク因子を明らかにするため、患者の臨床データを後ろ向きに解析し、さらに、マウスへ PCT を投与して CIPN モデルを作製しその原因解明を試みた。

【方法】2014年～2019年に生長会府中病院で PCT を投与した患者227人について、CIPN の発症率と grade (1-4) に影響する因子を解析した。統計解析はスピアマンの順位相関分析の他、連続変数を2値変数に変換した後、フィッシャーの正確確率検定、ロジスティック回帰分析、Log-lank 検定および cox 比例ハザード回帰分析を用いて行っ

た。また、雌マウスに PCT を反復腹腔内投与した後、von Frey 法により CIPN 発症を評価し、卵巣摘出 (OVX) の影響を調べた。

【結果】臨床データ解析により、乳がん患者は他のがんの患者と比較して PCT による CIPN 発症リスクが高いこと、また乳がん患者のサブ解析において、57歳以上であることが CIPN の発症あるいは重症化のリスク因子であることが判明した。一方、マウスにおいて OVX は PCT による CIPN を増悪させた。

【考察】以上より、乳がん患者では他のがんの患者に比べて PCT による CIPN の発症リスクが高く、また乳がん患者における CIPN は更年期以降で重症化しやすいことが判明した。さらに、動物実験により、エストロゲン分泌量の低下が加齢に伴う CIPN の重症化に関与する可能性が示唆された。

○山口 太郎、米山 雅紀、尾中 勇祐、荻田 喜代一
摂南大・薬・薬理

【目的】難聴は、本邦の65歳以上の3割が罹患する疾患であるにもかかわらず、未だに病態メカニズムに不明な点が多く、現時点では有効な治療法は存在しない。しかしながら、近年、加齢性難聴、騒音性難聴などの慢性感音難聴の発症初期に、内有毛細胞－蝸牛神経間のシナプス数が減少することが示唆されている。発達期中枢神経系や網膜では、シナプスの刈り込みや機能的成熟にマクロファージが関与することが知られており、シナプスの制御にマクロファージが重要な役割を果たすことが明らかになっている。そこで本研究では、反復騒音曝露後のシナプス数の減少における蝸牛マクロファージの関与について解析した。

【方法】5-6週齢BALB/cCr 雌性マウスより得られた蝸牛について、CSF1R(コロニー刺激因子1受容体、マクロファージマーカー)、CD11b(ミクログリアマーカー)に対する抗体を用いて、免疫染色を行った。騒音(8kHz、90dB)を1日1回、1時間マウスに曝露し、これを5日間反復した。曝露1および5日後に、myosinVIIa(有毛細胞マーカー)、CtBP2(シナプス前部マーカー)およびGluA2(シナプス後部マーカー)について免疫染色を行い、内有毛細胞－蝸牛神経間のシナプス数を解析した。また、反復騒音曝露に

よるシナプス数の変動に対するマクロファージ枯渇薬(PLX3397、CSF1R阻害薬)およびミクログリア活性化抑制薬(minocyclin)の影響を同様に解析した。PLX3397(290mg/kg)は、飲水中に懸濁し、初回騒音曝露7日前より曝露最終日まで自由摂取させ、minocycline(10mg/kg)は、各騒音曝露3時間前に腹腔内投与した。

【結果】蝸牛マクロファージは、蝸牛軸、コルチ器、外側壁など蝸牛各部位に広く分布しており、CSF1R、CD11bの発現が認められた。反復騒音曝露は、シナプス数を曝露回数に依存して減少させた。非騒音曝露群へのPLX3397の継続的摂取は、CD11b陽性細胞数を減少させたが、シナプス数に影響を及ぼさなかった。一方、反復騒音曝露群へのPLX3397の継続的摂取はシナプス数の減少を有意に抑制した。また、minocyclineの投与は、反復騒音曝露によるシナプス数の減少を有意に抑制した。

【考察】以上の結果から、反復騒音曝露による内有毛細胞－蝸牛神経間のシナプス数減少に蝸牛マクロファージの活性化が一部関与することが示唆される。

B-06

高脂肪食を負荷した糖尿病モデルマウスで生じる網膜神経細胞の脱落に対するアペリン受容体アゴニストの保護作用

○柴垣 郁弥、石丸 侑希、赤井 喜一、徳田 華奈、山室 晶子、吉岡 靖啓、前田 定秋
摂南大・薬

【目的】 糖尿病網膜症では早期に網膜神経障害が起こり、この網膜神経障害が進行して網膜血管新生や黄斑浮腫が生じ、失明に至ることが明らかにされているが、糖尿病網膜症における網膜神経障害を抑制する治療法は確立されていない。これまでに我々は、糖尿病モデルマウスである Akita マウスに高脂肪食 (HFD) を負荷することにより、網膜の神経活動が低下すること、およびこの低下はアペリン受容体アゴニストにより抑制されることを本学会で報告した。本研究では、HFD を負荷した Akita マウスにおける網膜神経障害に対する内因性アペリンおよびアペリン受容体アゴニストの保護作用について免疫組織学的手法を用いて検討を行った。

【方法】 雄性の Akita マウスおよびアペリン欠損 Akita マウスの5週齢から HFD を4週間自由摂取させた。アペリン受容体アゴニスト ML233 (5mg/kg) は、HFD 負荷開始日から4週間、週3回、1日おきに1回腹腔内投与した。網膜神経節細胞、錐体細胞、および双極細胞は、それぞれ、抗 Brn-3a 抗体、抗 Cone-arrestin 抗体、および抗 Chx10 抗体による免疫組織化学染色により検出した。

【結果および考察】 Akita マウスに HFD を4週間負荷すると Brn-3a 陽性細胞、Cone-arrestin 陽性細胞、および Chx10 陽性細胞数の有意な減少がみられた。この減少は ML233 の腹腔内投与により著明に抑制された。アペリン欠損 Akita マウスでは、HFD を2週間負荷することにより、網膜における Brn-3a 陽性細胞、Cone-arrestin 陽性細胞、および Chx10 陽性細胞数の有意な減少がみられた。以上の結果より、HFD を負荷した Akita マウスの網膜では、神経節細胞、錐体細胞、および双極細胞の脱落がみられること、およびこれらの細胞の脱落に対して ML233 および内因性アペリンが保護作用を示すことが示唆され、アペリン受容体アゴニストの末梢投与により糖尿病網膜症で生じる網膜神経障害を抑制できる可能性が示唆された。

B-07

網膜色素上皮細胞の上皮間葉転換における GDF15 の役割

○石田 和嗣、高橋 慶、中村 信介、嶋澤 雅光、原 英彰
岐阜薬科大・薬・薬効解析

【背景】 滲出型加齢黄斑変性 (neovascular age-related macular degeneration : nAMD) は、脈絡膜からの異常な血管新生を伴い、慢性期では線維瘢痕を生じ、不可逆的な視機能障害をもたらす疾患である。瘢痕形成に網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium : RPE) 細胞の上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition : EMT) の関与が知られているが、EMT の原因及び詳細なメカニズムは不明である。Growth differentiation factor 15 (GDF15) は transforming growth factor-beta (TGFβ) の遠縁メンバーで、多数の癌細胞で EMT 促進因子として機能することが知られている。さらに AMD の代表的な疾患感受性遺伝子 age-related maculopathy susceptibility protein 2 (Arms2)/high temperature requirement A1 (Htra1) の一塩基多型を有する患者の血清で発現が顕著に増加することが報告されている。したがって、本研究では RPE 細胞に対する GDF15 の上皮間葉転換誘導作用について検討した。

【方法】 ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 細胞を播種し、2日毎に10% fetal bovine serum (FBS) 含有 dulbecco's modified eagle's medium/ham's F12 nutrient (DMEM/F-12) で培地交換を行った。90% コンフルエントに達し

た時点で、1%FBS 含有 DMEM/F-12 で培地交換を行い、24時間培養した。2日毎に3、10及び30ng/mL ヒトリコンビナント GDF15 (hrGDF15) を添加した。ポジティブコントロールとして10ng/mL ヒトリコンビナント TGFβ1 (hrTGFβ1) を添加し、対照群にはリン酸緩衝生理食塩水を添加した。添加144時間後に形態観察及びウエスタンブロット法、免疫染色法による EMT 関連因子の評価を行った。

【結果】 hrGDF15 10、30ng/mL 及び hrTGFβ1 10ng/mL 添加群において、ARPE-19細胞の EMT 様の形態変化が認められた。また、ウエスタンブロット法により hrGDF15 30ng/mL の添加が、fibronectin の発現量を増大させることを明らかにした。さらに、免疫染色の検討において GDF15 の暴露により細胞表面における fibronectin の発現増大が認められた。hrTGFβ1 10ng/mL 添加においても同様の変化が認められた。

【考察】 GDF15 の添加により ARPE-19細胞の EMT 様の器質的及び機能的が認められた。GDF15 は RPE 細胞の EMT を促進し、nAMD おける線維瘢痕形成に寄与する可能性が示唆された。

新規抗がん剤候補化合物 ACA-28 依存的なアポトーシス誘導機構における
MAPK Phosphatase DUSP6 の役割

○水野 綾美、宮本 理穂、神田 勇輝、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子
近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬

ERK MAPK シグナル経路の異常な活性化は細胞のがん化に密接に関わることから、ERK 経路の活性を制御する薬物は抗がん剤治療において重要である。当研究室では、独自の遺伝学的スクリーニングにより新規抗がん剤候補化合物 ACA-28 (a synthetic derivative of 1'-acetoxychavicol acetate #28) を単離した。ACA-28 は ERK 活性化メラノーマ細胞、あるいは HER2 過剰発現細胞 (A4-15 細胞) において、特異的に細胞増殖抑制や細胞死を誘導する。興味深いことに、ACA-28 はこれらのがん細胞において亢進している ERK のリン酸化レベルをさらに上昇させることで、がん細胞特異的な細胞増殖抑制や細胞死を誘導するが、そのメカニズムは不明である。

ERK 特異的脱リン酸化酵素である DUSP6 (Dual-specificity Phosphatase 6) は、ERK の抑制機構として重要であり、一部のがん種で高発現していることが報告されている。私は、ACA-28 による ERK の活性依存的に誘導されるがん細胞特異的な細胞死に DUSP6 の発現が関わるのではないかと考えた。まず、正常細胞 (NIH-3T3 細胞) と HER2 過剰発現細胞において DUSP6 の発現量を確認した。HER2 過剰発現細胞において DUSP6 は mRNA、タンパク質量と

もに NIH-3T3 細胞と比較して顕著に増加していた。さらに興味深いことに HER2 過剰発現細胞において、ERK の活性依存的に高発現していた DUSP6 のタンパク質量は ACA-28 添加により顕著に低下した。次に、DUSP6 タンパク質量の低下が ACA-28 の特異的な細胞増殖抑制を誘導しているのかを確認する目的で、siRNA を用いた DUSP6 の Knock Down を行った。その結果、DUSP6 の発現低下は HER2 過剰発現細胞特異的に細胞増殖抑制を引き起こした。DUSP6 はユビキチンプロテアソーム系を介してタンパク質分解されることが報告されている。そこで、プロテアソーム阻害剤、MG132 を用いて検証を行ったところ、ACA-28 による DUSP6 のタンパク質量の低下が MG132 によりキャンセルされることがわかった。以上の結果は、ERK 活性化がん細胞において DUSP6 を標的としたがん治療の可能性を提唱するものである。

卵巣摘出マウスにおけるパクリタキセル誘発性末梢神経障害の増悪：
HMGB1 の関与について

○平本 志於里¹⁾、貫戸 綾乃¹⁾、宮本 朋佳^{1,2)}、坪田 真帆¹⁾、小泉 祐一²⁾、西堀 正洋³⁾、川畑 篤史¹⁾

1) 近畿大・薬・病態薬理、2) 府中病院・薬剤、3) 岡山大院・医歯薬・薬理

Damage-associated molecular patterns (DAMPs) の1つである high mobility group box 1 (HMGB1) は壊死細胞から受動的に、活性化されたマクロファージ (M φ) から能動的に放出され、様々な受容体にリガンドとして結合することで炎症や疼痛を引き起こす。我々は、抗がん剤 paclitaxel (PCT) や bortezomib (BTZ) により誘起される末梢神経障害 (CIPN) の発症に M φ 由来 HMGB1 が関与することを明らかにしている。今回は、臨床データ解析により PCT 投与乳がん患者における CIPN の発症と年齢の関係性を調べ、基礎研究では、PCT 投与マウスにおける CIPN の発症に及ぼす卵巣摘出 (OVX) の影響を調べて、M φ 由来 HMGB1 の関与を検討した。

生長会府中病院で PCT による治療を受けた乳がん患者における CIPN の発症に対するリスク因子を解析したところ、57歳以上の患者で CIPN の発症率および重症化率が高くなっていた。そこで、女性ホルモンが PCT による CIPN の発症に及ぼす影響を検討するため、雌性 ddY マウスの卵巣を摘出 (OVX) して PCT を投与し、von Frey 法により CIPN の発症を評価した。その結果、偽手術マウスでは無効であった PCT 1mg/kg を、OVX 処置マウスに

2日に1回、計4回反復腹腔内投与したところ、明らかな CIPN が発症し、これは抗 HMGB1 中和抗体 1 mg/kg、HMGB1 不活性化作用を有する トロンボモジュリンアルファ (ヒト可溶性 トロンボモジュリン) 10 mg/kg あるいは β-estradiol (E2) 3 μg/mouse の反復投与により有意に抑制された。次に、M φ 由来 RAW264.7 細胞において、PCT および BTZ 刺激により HMGB1 遊離が認められたが、E2 は PCT による HMGB1 遊離のみを抑制した。

以上、PCT 投与乳がん患者では更年期以降で CIPN が重症化しやすいことが判明し、基礎研究により、エストロゲンが不足すると、PCT による M φ からの HMGB1 遊離が増加し CIPN が発症しやすくなる可能性が示唆された。このことより、加齢に伴うエストロゲン分泌量の低下が CIPN の増悪化に寄与する可能性が考えられる。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)トランスジェニックマウスにおけるうつ様行動解析

○大塚 青海、石井 晋暉、奥島 千裕、橋川 直也、橋川 成美
岡山理科大・理

【目的】カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)はカルシトニン遺伝子からスプライシングの違いによって作られるアミノ酸37個からなる神経ペプチドで、強力な血管拡張作用がある。これまで我々は、うつ様症状を示すモデルマウスにおいて、CGRPの発現量が脳海馬において有意に減少していること、更にこのモデルマウスにCGRPを脳室内に投与することによって、うつ様状態を抑制し、これは神経成長因子の海馬における発現量の減少が関与していることを報告してきた。CGRPのうつ様症状における役割を更に詳細に検討するために、CGRP過剰発現マウス(Tg)を作製し、うつ様行動の影響を検討した。

【方法】CGRP過剰発現マウス(Tg)は、8週齢の雄性マウスを使用した。対照群として同週齢のC57BL6Jマウス(WT)を用いた。ストレスの負荷には社会敗北ストレスを用い、2週間連続してストレス負荷を行なった。行動試験は、オープンフィールド試験、社会的行動試験、強制水泳試験、尾懸垂試験、スクロース嗜好試験を行い、うつ様行動を評価した。

【結果】オープンフィールド試験における自発行動量はWTマウス、CGRP Tgマウスいずれにおいても変化は見

られず、ストレスを負荷した場合でも有意な変化は見られなかった。一方不安様行動は、ストレス負荷によりWTマウス、CGRP Tgマウスいずれも不安様行動の増加が見られた。またCGRP Tgマウスでは、社会的行動試験においてストレスによる社会行動性の低下、強制水泳試験、尾懸垂試験における不動時間の延長、更にスクロース嗜好試験におけるスクロース嗜好性の低下が見られた。これらの結果から、CGRP Tgマウスでは、WTマウスと比べてストレスに対する抵抗性があるわけではなく、ストレスに対する感受性は同程度であることが示唆された。

低温培養はアストロサイト由来エリスロポエチンを増加させ神経細胞死を抑制する

○鳥内 皐暉¹⁾、垣田 博樹²⁾、岩城 壮一郎¹⁾、田村 哲也³⁾、山田 恭聖²⁾、青山 峰芳¹⁾

1)名古屋市立大・院薬・病態解析、2)愛知医科大・周産期母子医療セ・新生児集中治療、
3)名古屋市立大・院医・麻酔危機管理医

【目的】 新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)は児の脳血流が途絶することによって生じ、脳性麻痺など重篤な後遺症につながる予後不良疾患である。現在、有効性が確認されている治療は低体温療法のみであるが、効果は不十分で作用メカニズムも不明瞭である。特に、エリスロポエチン(EPO)は低酸素条件下でアストロサイトから分泌される神経保護因子として注目されているが、HIE病態や低体温療法への関与は不明である。本研究では低温刺激によるEPO発現変化とその神経保護効果を検討した。

【方法】 ラット大脳皮質由来アストロサイトに低酸素(1%)刺激とOxygen-glucose deprivation(OGD)刺激を加え、EPOとEPOの転写因子であるHypoxia inducible factor(HIF)の発現を解析した。さらにOGD刺激後に37℃で培養する常温群と33.5℃で培養する低温群に分けて培養し、EPOとHIFの発現量を解析した。最後に低温群由来培地でOGD刺激後のラット初代培養ニューロンを培養した後、アポトーシスマーカーの染色を行いEPOによるアポトーシス抑制効果を検討した。

【結果】 OGD刺激群では低酸素刺激群に比べEPO発現が乏しいことが明らかとなった。また、OGD群ではHIF-2

αタンパクの発現が低かった。次に、OGD刺激後の低温群ではHIFタンパクの発現レベルが上昇し、EPOの発現も亢進した。最後に低温群由来培地で培養したニューロンはアポトーシスマーカー陽性細胞数が有意に減少した。

【考察】 HIE病態においてアストロサイトが低酸素・低栄養状態になったとき、エリスロポエチンの産生が乏しいことが示唆された。また、低体温療法を施すことでHIF発現安定化を介してEPO産生が亢進し、神経細胞死が抑制されることが示唆された。この知見は低体温療法の作用メカニズムに基づいた新規脳保護治療の開発につながるものと考えられる。

SNAREタンパク質Syntaxin 3によるセロトニントランスポーターの機能制御

○本池 芹佳^{1,2)}、田口 慧¹⁾、卜部 智晶^{1,3)}、原田 佳奈¹⁾、秀 和泉¹⁾、田中 茂¹⁾、入船 正浩²⁾、酒井 規雄¹⁾

1)広島大・院医歯薬保健・神経薬理学、2)広島大・院医歯薬保健・歯科麻酔学、3)広島大・院医歯薬保健・麻酔蘇生学

【目的】 セロトニントランスポーター(SERT)は、神経終末にセロトニン(5-HT)を再取り込みすることにより、5-HT神経伝達の終了を担う膜タンパク質である。我々は、SERTや小胞体に停留するSERT変異体の膜輸送を促進する薬物として、シグマ1受容体作用薬のSKF-10047を見出した。また、SKF-10047の24時間投与で変動する遺伝子として、膜輸送に重要な働きを持つSNAREタンパク質の一つであるSyntaxin 3(STX3)を同定した。そこで本研究では、STX3がSERT機能に及ぼす影響について検討した。

【方法】 一過性FLAG-SERT発現AD293細胞、COS-7細胞、FLAG-SERT安定化発現HEK293細胞(FLAG-SERT-HEK細胞)、および内在性にSERTとSTX3を発現するヒト大腸がん由来Caco-2細胞を用いた。STX3 siRNA、FLAG-SERT cDNA、Myc-DDK-STX3 cDNAの遺伝子導入は電気穿孔法を用いた。これらの細胞に対し、5HT取り込みの計測、western blotting、蛍光免疫染色を施行した。

【結果・考察】 一過性FLAG-SERT発現AD293細胞、COS-7細胞、FLAG-SERT-HEK細胞では、STX3のノッ

クダウンは、SERT取り込み活性には影響を及ぼさなかったが、SERTの完全糖鎖修飾体のバンドを上方移動させた。COS-7細胞に発現させたHA-SERT、Myc-DDK-STX3は、主に小胞体やゴルジ体で共局在することを蛍光免疫染色にて確認した。Caco-2細胞では、STX3をノックダウンすると、SERT取り込み活性が抑制された。また、免疫蛍光染色ではSERTもSTX3も刷子縁や管腔の微絨毛様構造に局在することが明らかとなった。これらの結果から、HEK293細胞、COS-7細胞ではSERTとSTX3は細胞内で共局在し、STX3はSERTの糖鎖修飾に何らかの影響を与えることが考えられた。また、Caco-2細胞においては、STX3は微絨毛においてSERTの取り込み活性を正に制御することが示唆された。本研究より、STX3はSERTの膜輸送の過程でSERTと共局在し、SERTの機能を調節する可能性が示唆された。

B-13

AiCE マウスを用いた片側感覚刺激後における左右半球比較による樹状突起スパインの可塑的変化の観察

○宮澤 徹¹⁾、久保山 和哉^{1,2)}、井上 貴文³⁾、橋本谷 祐輝⁴⁾、伊藤 拓矢¹⁾、鈴木 東介¹⁾、
鉄澤 愛彩¹⁾、木下 諒¹⁾、大塚 庸介¹⁾、高良 廉¹⁾、Gusain Pooja²⁾、多和田 真聖¹⁾、
狩野 方伸⁴⁾、山田 麻紀^{1,2)}

1)徳島文理大・香川薬学・薬理、2)徳島文理大・香川薬学・神経科学、3)早稲田大・院先進理工先端生命医科学、
4)東京大院医神経生理

神経細胞間の情報伝達部位であるシナプスの可塑的変化、なかでも長期的な伝達増強(LTP)は、記憶の獲得への基盤的現象であると考えられている。これまでに我々の研究グループでは、興奮性シナプスの情報伝達の受け手側にあたる突起、スパインの一部に局在し、記憶障害にともないその局在量が増加する分子として、F-actin capping protein の一種 CapZ を見出ししてきた。スパインの骨格は、F-actin で形成されている。CapZ は、F-actin の末端に結合して、スパインが可塑的変化を起こす時の F-actin のリモデリング(枝分かれ、伸長、縮退や球状化など)に関与していると考えられている。実際に、生体内で LTP を誘導した部位では CapZ の局在が有意に高くなることを報告してきた。そこで今回我々は、緑色蛍光タンパク質(EGFP)を融合した CapZ を発現するトランスジェニックマウス、AiCE (Arc-induced CapZ labeled with EGFP) マウスを作製し、その解析を行った。本マウス由来急性海馬切片に対して人工的に LTP を誘導する刺激を与えてみたところ、EGFP-CapZ の蛍光シグナルの局在が増加した

ため、LTP を起こしたスパインを蛍光で可視化できる可能性が考えられた。また、片眼を遮光シートで遮断することによって片眼のみに視覚刺激を加えた後に、大脳皮質一次視覚野単眼視領域第 IV 層を左右半球で比較した結果、刺激入力 20 分後において、入力依存的なスパインレベルでの EGFP-CapZ シグナルの増強が確認された。同様の結果は、片側の坐骨神経の伝達を薬物でブロックし、すぐに体性感覚刺激を加え、15 分後における一次体性感覚野の左右を比較した場合においても左右差が認められた。さらに、記憶獲得や LTP 惹起に必要な NMDA 受容体の遮断薬である MK-801 を、刺激前に投与したところ、この入力依存的な EGFP-CapZ のスパインレベルでの増加は抑制された。すなわち、EGFP-CapZ のスパインへの局在変化は NMDA 受容体活性依存であり、記憶やシナプス可塑性との関係があることが考えられた。これらの結果は、AiCE マウスの大脳皮質に発現する EGFP-CapZ が、入力依存の可塑的変化を検出し得ることを示唆している。

B-14

酪酸グリセロールエステルによる老化予防の可能性

○竹野 恭子¹⁾、吉井 美智子²⁾、小澤 光一郎²⁾

1)広島大・薬、2)広島大・院医

【目的】近年、我国を始め世界的に人口の高齢化が進んでおり老化の予防は急務と言える。以前我々は、九州大学久山町疫学調査の乳製品摂取量とアルツハイマー型認知症リスクとの関連性に着目し、乳製品は酪酸含有量が多いことから、tributyrin を糖の再吸収低下を伴う老化促進マウス SAMP10 に投与し、老化予防効果を確認している(第 55 回日本薬学会中四国支部会)。しかし tributyrin は酪酸グリセロールエステルであるため、今回は glycerol をコントロールとし、tributyrin の効果と比較検討を行った。

【方法】通常老化を示す SAMR1 雄性マウスの R1-cont 群(粉末飼料 +0.7% glycerol)、SAMP10 雄性マウスの P10-cont 群(粉末飼料 +0.7% glycerol)、P10-TB 群(粉末飼料 +2% tributyrin)、各 10 匹に 32 週齢から 58 週齢まで各飼料を投与した。体重、餌摂取量は定期的に計測し、運動能力、記憶能力を評価するため、ワイヤーハンゲテスト(55 週齢)、オープンフィールドテスト(57 週齢)、新奇物体認識試験(51 週齢)、帰巣試験(53 週齢)、受動的回避行動試験(57 週齢)を行った。

【結果、考察】体重は P10 の 2 群間で差は認められなかった(58 週齢時 P10-cont 群 32.6 ± 2.4g、P10-TB 群 32.8 ±

1.6g、R1-cont 群 47.4 ± 0.7g)。ワイヤーハンゲテストの結果、P10 の 2 群間で同等であった(P10-cont 群 171 ± 46 秒、P10-TB 群 171 ± 46 秒、R1-cont 群 103 ± 32 秒)。オープンフィールド試験の結果、P10 の 2 群の立ち上がり回数の減少は P10-TB 群で抑制傾向にあった(p=0.64、P10-cont 群 22.7 ± 2.8 回、P10-TB 群 33.6 ± 7.2 回、R1-cont 群 49.6 ± 10.4 回)。受動的回避行動試験によるすみ時間は、電撃ショック翌日は P10 の 2 群で同等であったが、40 日後において、P10-cont 群が延長した(p=0.0012、P10-cont 群 372 ± 46 秒、P10-TB 群 151 ± 32 秒、R1-cont 群 119 ± 25 秒)。このことから、tributyrin の効果において酪酸単独で脳の機能を保持する可能性が示唆された。

B-15

ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬は脳内炎症の抑制を介して末梢炎症誘発性の認知機能障害を改善する

○高田 直樹、中村 庸輝、中島 一恵、森岡 徳光
広島大・院医歯薬保健

【背景】動物モデルを用いた検討で、末梢の炎症反応が認知機能障害を惹起することが報告されている。疫学調査でも、非ステロイド性抗炎症薬の長期服用により、末梢炎症の抑制を介してアルツハイマー病発症リスクが低下することが報告されている。しかし、末梢炎症が認知機能障害を引き起こす詳細なメカニズムは明らかになっていない。ミクログリアは中枢神経系におけるグリア細胞の一種であり、炎症性サイトカインの放出など脳内の炎症反応を介して認知機能障害を引き起こすことが知られている。そのため、ミクログリアはアルツハイマー病など認知機能障害を伴う疾患に対する有望な治療標的となっている。さらに、遺伝子発現調節に関与するヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)が認知機能障害に関与することも報告されているが、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究では、中枢移行性が低いことが知られている lipopolysaccharide (LPS) を腹腔内投与したマウスを用いて、末梢炎症による認知機能障害誘発メカニズムに対するミクログリア及びHDACの関与について検討を行った。**【方法】** ddY マウス(雄、6週齢)にLPSを腹腔内投与した。LPS 処置24時間後、新規物体認知試験を実施し、認知機能

変化を解析した。また、中枢移行性の低い非特異的HDAC阻害薬である suberoyl anilide hydroxamic acid (SAHA, Vorinostat)、ミクログリア阻害薬である minocycline はそれぞれLPS投与の1時間前に処置した。マウス海馬のミクログリアの形態変化及び炎症性サイトカイン発現量は免疫組織化学染色法及びリアルタイムPCR法によりそれぞれ解析した。

【結果】 LPS投与により認知機能が有意に低下した。さらに、LPS投与により海馬ミクログリアが活性化し、interleukin-1 β (IL-1 β)、inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA 発現量が有意に増加した。これらのLPSによる反応は、SAHA及びminocyclineをそれぞれ前処置すると有意に減弱した。

【結論】 末梢炎症は海馬でのミクログリア活性化や炎症性サイトカインの発現増強を介して認知機能障害を引き起こし、これらの反応に末梢におけるHDACの活性化が重要な役割を担う可能性が示唆された。

B-16

ブチリルコリンエステラーゼの阻害は脳内アセチルコリンとグレリンシグナルの促進により認知機能障害を改善する

○塚田 信司¹⁾、東野 功典¹⁾、国本 寿美子¹⁾、田邊 航¹⁾、山口 拓海²⁾、中川 晋作^{2,3)}、Greig Nigel⁴⁾、橋本 均^{1,5,6,7,8)}、吾郷 由希夫^{2,3)}
1)大阪大・院薬・神経薬理、2)大阪大・院薬・薬剤、3)大阪大・国際医工情報センター、4)NIH/NIA、5)大阪大・院連合小児発達、6)大阪大・データビリティフロンティア機構、7)大阪大・先導的学際研究機構、8)大阪大・院医・分子医薬

【背景と目的】ブチリルコリンエステラーゼ(BuChE)は脳内において主にグリア細胞に局在するコリンエステラーゼとして知られているが、その生理病態学的役割の詳細は不明である。我々はこれまでに、BuChEとアセチルコリンエステラーゼ(AChE)の両方の阻害作用をもつリバスチグミンが、ガラントミンやドネペジルと比べ大脳皮質前頭前野での細胞外ACh量の増加は非常に小さいものの、精神疾患モデル動物において認知機能障害を改善することを明らかにした(Higashino et al., Psychopharmacology 2016)。本研究では、リバスチグミンの薬理学的プロファイルにおけるBuChE阻害の意義を明らかにする目的で、選択的BuChE阻害薬(-)-N¹-phenethylnorcymserine(以下、PEC)の作用について検討を行った。

【結果・考察】新奇物体認識試験において、PECは用量依存的に長期隔離飼育マウスの認知機能障害を改善し、この作用はムスカリンM₁受容体拮抗薬テレンゼピンによって抑制された。しかしPECによる大脳皮質前頭前野での細胞外ACh量の増加は、リバスチグミンと同様、非常に小

さいものであった。一方PECは、中枢M₁受容体の活性化による大脳皮質ドーパミン遊離の増加を増強させ、M₁受容体を介する反応を亢進させる可能性が明らかとなった。BuChEはACh以外にも消化管ホルモンであるグレリンの代謝に関わっていることが知られている。免疫組織化学染色から、大脳皮質前頭前野においてM₁受容体とグレリン受容体GHSR1aとが同一の細胞に発現しているものがあることを見いだした。また、PECによるM₁受容体を介する反応の増強と認知機能障害改善作用は、グレリン受容体拮抗薬であるJMV2959により抑制された。一方PECによるドーパミン遊離の増強は、迷走神経の切除によっては抑制されず、末梢からのグレリンシグナルの関与はみられなかった。以上の結果は、BuChEの阻害が、ACh遊離の軽微な増加と中枢グレリンシグナルの促進により、それぞれM₁受容体、GHSR1a受容体を活性化し協調的に働くことで、認知機能障害を改善することを示唆するものである。

AGEs と炎症関連分子の共存が炎症反応に与える変化の検討

○渡邊 政博¹⁾、豊村 隆男¹⁾、和氣 秀徳²⁾、劉 克約²⁾、勅使川原 匡²⁾、高橋 英夫³⁾、
西堀 正洋²⁾、森 秀治¹⁾

1) 就美大・薬、2) 岡山大・院医歯薬、3) 近畿大・医

【背景と目的】 これまでに我々は、還元糖とアミノ基を有する分子が非酵素的に結合することによって生じる終末糖化産物 (advanced glycation endproducts, AGEs) が、生体内において起炎を引き起こすメカニズムについて解析を行ってきた。その結果、従来知られていた AGEs 受容体 (receptor for AGEs, RAGE) を介したメカニズムに加えて、AGEs が生体内の炎症関連分子と相互作用し、相手の分子の機能を変化させる作用が存在する可能性を見出した。このことは、AGEs を含む複数の炎症関連分子が相互作用することにより炎症反応を誘導するメカニズムが存在することを示唆している。このような現象は、AGEs と同様に RAGE を介して作用すると考えられている内在性の炎症関連分子群であるダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns, DAMPs) の間や、それ以外の炎症関連分子との間においても生じることが示唆されている。このことから、AGEs と DAMPs との間においても同様の現象が生じる可能性が考えられる。そこで本研究では、AGEs と、代表的な DAMPs である high mobility group box-1 (HMGB1) 等の炎症関連分子が相互作用を介して炎症反応を変化させる可能性について検討した。

【方法】 タグ配列を付加したリコンビナント HMGB1 の昆虫細胞発現系を構築し、タグ配列を用いたアフィニティー精製によりリコンビナント HMGB1 を調製した。この分子を含む炎症関連分子を AGEs と共に免疫担当細胞に与え、細胞機能の変化を検討した。

【結果と考察】 検討の結果、AGEs と HMGB1 に加え別種の起炎分子を共存させることにより、免疫担当細胞における炎症反応が変化することが示唆された。この結果は、AGEs が DAMPs と協調して炎症反応を変化させる作用をもつ可能性を示唆している。

新規 ERK シグナル調節薬 ACA-28 が多様な ERK 活性化癌細胞に対して ERK 依存的細胞死を引き起こす分子機構についての解析

○濱田 直弥¹⁾、佐藤 亮介¹⁾、高崎 輝恒¹⁾、田邊 元三²⁾、杉浦 麗子¹⁾

1) 近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬学、2) 有機薬化学

ERK MAPK シグナル伝達経路は、増殖や分化、老化など多様な生命機能に関わる。さらに、多くの臨床がんにおいて ERK シグナル伝達経路の恒常的な活性化が報告されていることから、がん治療の魅力的な標的経路として、ERK 活性を阻害する医薬品の研究開発が行われてきた。ACA-28 は ACA (Acetoxy chavicol Acetate) の誘導体の一種であり、当研究室で確立した“MAPK シグナルを標的とした創薬探索手法”を用いて、新規 ERK シグナル調節薬として同定された。ACA-28 は悪性黒色腫細胞 (メラノーマ) に対して選択的に細胞死を誘導する有望な抗がん剤シーズである。ACA-28 はメラノーマ、ならびに HER2 過剰発現細胞において活性化している ERK をさらに活性化することにより、ERK 活性化癌細胞選択的に細胞死を誘導する。この結果は、現在までに開発された ERK シグナルを標的とした抗がん剤が、ERK の過剰な活性を阻害することにより抗腫瘍効果を発揮することと対照的であり、ACA-28 の作用機構の解明やリード化合物の創製は新たながん治療戦略につながると考えられる。

今回、「構造活性相関研究」を用いて、癌細胞選択性と細胞死誘導能が向上した ACA-28 類縁体を同定し、メラ

ノーマ以外の癌種に対する有効性を検証した。具体的には膀胱がん細胞、乳がん細胞、各種臓器がん細胞をはじめとした多様ながん細胞に対する細胞死誘導効果ならびに ERK-MAPK シグナル経路の活性に与える影響について検証を行った。その結果、ACA-28 による細胞死誘導の有無にはがん細胞固有の ERK 活性に関わり、ACA-28 添加により一定の閾値を超えた ERK 活性が引き起こされる場合に ACA-28 は ERK 依存的細胞死を誘導する可能性が示唆された。さらに、ACA-28 依存的細胞死のメカニズムを明らかにする目的で、ERK1/2 の knock down が ACA-28 依存的細胞死に与える影響の解析、および ACA-28 添加がリン酸化 ERK の細胞内分布に与える影響についても解析を行ったので報告する。

○北谷 和之、今津 純平、岩津 琴音、山本 雄大、松田 将也、奈邊 健
摂南大・薬

スフィンゴ脂質セラミドはがん細胞に対して細胞障害性を示す生体分子である。この特性を活用したリポソーム化セラミド製剤は抗がん薬候補として開発され、臨床応用が進展している。これまで我々は、リポソーム化セラミド製剤はがん細胞に対し、プログラム化ネクローシス(ネクロプトーシス)を誘導することを見出した。今回、このネクロプトーシス誘導の分子機序を明らかにしたので報告する。Mixed lineage kinase domain like pseudokinase (MLKL) はネクロプトーシスの実行分子であり、当分子のノックダウンは短鎖セラミド(C₆-ceramide)の細胞死誘導作用を減弱させた。逆に MLKL の強制発現は短鎖セラミドの細胞死誘導作用を増強した。この短鎖セラミドの MLKL 依存的なネクロプトーシス誘導の分子機序の解明を試みたところ、無細胞系において短鎖セラミドは MLKL 分子と相互作用し、当分子のオリゴマー化/活性化を促進することが判明した。これらの結果から、スフィンゴ脂質セラミドは MLKL を直接活性化することでネクロプトーシスを誘導すると考えられる。これらの知見は、セラミド創薬の基盤構築に資すると期待される。

○村居 宏樹、安田 健一郎、菅野 篤信、上野 海、居場 嘉教
摂南大・理工・病態薬理

【背景・目的】 これまでに、我々は強制遊泳装置を用いた運動持久力の評価系において、赤血球造血刺激因子製剤の影響を検討したが、ヘマトクリット(Ht)値の有意な上昇にも関わらず、対照群との間に顕著な違いを見い出せなかった。本実験では、溶血性貧血を引き起こすフェニルヒドラジン(PHZ)を用いて、運動持久力に及ぼす赤血球減少の影響について検討した。

【方法】 7週齢の雄性FVBマウスに、強制回転かごを用いた1時間の運動を2週間、毎日(遊泳試験日を除く)負荷した。マウスを遊泳能力が均等になるように3群に分け、PHZ投与群にはPHZを30または60mg/kgの用量で腹腔内投与した。PHZ投与0、3、7および11日目に尾静脈から採血を行い、Ht値を測定した。強制遊泳試験はPHZ投与0、3および11日目に行い、流水口から35cm地点の到達回数を10分ごとに計測した。

【結果・考察】 PHZは60mg/kgの用量で投与3日目におけるHt値を有意に減少させたが、投与7および11日目のHt値は正常値レベルにまで回復していた。35cm地点の到達回数はすべての群において経時的な減少を示し、この減少は運動疲労によるものと考えられた。いずれの時点にお

いても、各群の到達回数そのものに有意な差は認められなかった。しかし、PHZ 60mg/kg投与群における0-10分の到達回数は、投与0日目と比較して、投与3日目で有意に減少し、投与11日目には投与前と同レベルにまで回復した。一方、対照群およびPHZ 30mg/kg投与群では期間を通じて到達回数に顕著な変化は認められなかった。以上の結果より、同じマウスにおける対応のあるデータを比較することにより、運動持久力に及ぼす薬物の影響を検出できると考えられた。

A series of 30 horizontal dashed lines spanning the width of the page, intended for writing or drawing.

C 会 場

2階 322教室

スギ花粉症に対する舌下免疫療法 (SLIT) における制御性 T 細胞サブセットおよび制御性 B 細胞の解析

○松田 将也¹⁾、寺田 哲也²⁾、稲葉 美樹¹⁾、濱口 淳平¹⁾、竹本 直樹¹⁾、北谷 和之¹⁾、河田 了²⁾、奈邊 健¹⁾

1) 摂南大・薬・薬効薬理、2) 大阪医大・耳鼻咽喉科・頭頸部外科

【目的】 アレルギー性鼻炎などを発症する花粉症においては、皮下免疫療法 (SCIT) ならびに舌下免疫療法 (SLIT) が有効性を示す。その効果発現機序には、炎症を抑える制御性 T (Treg) 細胞や制御性 B (Breg) 細胞が関与するとされるが、その詳細は明らかではない。本研究では、SLIT を行ったスギ花粉症患者の末梢血中の各 Treg 細胞ならびに Breg 細胞の数を、健常人および花粉症患者のそれらと比較した。

【方法】 2019年5月に、健常人、スギ花粉症患者ならびに SLIT を3年以上行ったスギ花粉症患者 (SLIT 治療群) の3群より末梢血単核球 (PBMC) を採取した。PBMC 中の Foxp3⁺ CD25⁺ Treg (Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ T) 細胞、ならびに高い免疫抑制活性を有する effector Treg (CD45RA⁻ Foxp3^{high} CD4⁺ T) 細胞、抗炎症性サイトカインの中でも IL-10 を高産生する Treg 細胞 (Tr1 (IL-10⁺ Foxp3⁺ CD4⁺ T) 細胞) ならびに Breg (IL-10⁺ CD19⁺) 細胞の数を flow cytometry により計測した。さらに、PBMC 中の IL-10 産生に関わる転写因子 (E4BP4、c-maf、Egr-2 および Foxp3) の mRNA 量をリアルタイム RT-PCR 法により定量した。

【結果】

- (1) 花粉症患者群の Foxp3⁺ CD25⁺ Treg 細胞数は、健常者群に比べて、少なかった。一方、SLIT 治療群の Foxp3⁺ CD25⁺ Treg 細胞数は、花粉症患者群に比べて有意に多かった。Effector Treg 細胞数に関しては、各群間の有意な差は認められなかった。
- (2) 花粉症患者群の Tr1 細胞数は、健常者群に比して有意に少なかったが、SLIT 治療群の Tr1 細胞数は、花粉症患者群のそれに比べて有意に多かった。
- (3) 花粉症患者群の Breg 細胞数は、健常者群に比べて有意に少なかった。一方、SLIT 治療群と花粉症患者群の Breg 細胞数の間には、有意な差は認められなかった。
- (4) E4BP4、c-maf、Egr-2、および Foxp3 の mRNA 発現は、いずれも SLIT 治療群で高い傾向にあった。

【考察】 SLIT によるアレルギー症状の改善には、Foxp3⁺ CD25⁺ Treg 細胞および Tr1 細胞の増加が関与する可能性が示唆された。

慢性消化器症状における TLR4 と NOD2 の発現量相関性について

○東 泰孝

大阪府大・獣医・薬理

【目的】 潰瘍性大腸炎、クローン病をはじめとした炎症性腸疾患は原因不明な腸疾患のため、マウスモデルに加えてさらなる研究材料の提供が求められている。ヒト炎症性腸疾患では、これまでに幾つかの危険因子が見いだされている。微生物は Toll 様受容体 (TLR) によって検出され、微生物感染に起因する炎症は炎症性腸疾患の危険因子である。Nucleotide-binding oligomerization domain 2 (NOD2) はクローン病の感受性遺伝子である。TNF-alpha は炎症性腸疾患の腸管では過剰な免疫応答により大量に産生される。今回、慢性の消化器症状を呈するイヌを用いて、症状の程度における TLR4、NOD2、および TNF-alpha の発現量相関性について検討した。

【方法】 大阪府立大学附属獣医臨床センターに来院し、慢性の消化器症状を呈した、炎症性腸疾患9例、低分化型リンパ腫4例、食餌反応性腸症3例、慢性膵炎2例、高分化型リンパ腫1例、炎症性結直腸ポリープ1例、慢性大腸炎1例の計21症例を解析に供した。内視鏡検査により、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸から採取した腸粘膜組織生検標本の一部を検体として保存し、RNA を精製後、定量リアルタイム PCR により解析した。症状の程度は HE 染色

により診断した。

【結果】 検討した5部位の内、回腸において、症状の重症度が TLR4 発現量上昇と正の相関を示した。十二指腸、胃、および直腸においては、症状の重症度が NOD2 発現量上昇と正の相関を示した。しかしながら、TNF-alpha は検討した5部位いずれにおいても重症度と発現量変動の間に相関は認められなかった。

【考察と今後の展望】 以上の結果より、TLR4 ならびに NOD2 が慢性の消化器症状に対する治療の標的となる可能性が示唆される。今後、イヌ疾患をヒト疾患とマウスモデルの間をつなぐ新しい研究材料として活用していきたい。

野ブドウ蔓に見出した花粉症感受性遺伝子発現抑制活性

○水口 博之¹⁾、Islam Rezwanul²⁾、湧川 朝治²⁾、綿野 智一¹⁾、道永 昌太郎¹⁾、池田 久³⁾、
 籾本 雅巳⁴⁾、武田 憲昭⁵⁾、福井 裕行^{4,5)}

1)大阪大谷大・薬、2)徳島大・院医歯薬、3)㈱Nab、4)錦秀会、5)徳島大・院医歯薬

アレルギー疾患は遺伝子の異常発現亢進を伴う難治性多因子疾患であり、症状発症に寄与する疾患感受性遺伝子発現を制御することは疾患治療に有効であると考えられる。我々は、これまでに、くしゃみや鼻水などの花粉症急性症状に寄与する疾患感受性遺伝子として、ヒスタミン H₁ 受容体 (H1R) および IL-9 遺伝子を、好酸球増多により惹起される鼻閉などの慢性症状に寄与する疾患感受性遺伝子として IL-33 遺伝子を見出してきた。今回、我々は、野ブドウ蔓にこれらの遺伝子発現抑制活性を見出したので報告する。

野ブドウ蔓熱水抽出物 (Wild Grape Hot Water Extract ; WGE) は、HeLa 細胞におけるヒスタミンおよび PMA 刺激に伴う H1R 遺伝子発現亢進を抑制した。しかし、RBL2H3 細胞におけるイオノマイシン刺激に伴う IL-9 遺伝子発現亢進は抑制しなかった。また、WGE は、Swiss3T3 細胞における PMA 刺激に伴う IL-33 遺伝子発現亢進も抑制した。WGE は、H1R および IL-33 遺伝子発現シグナル経路に寄与する PKC δ の活性化に必須である Tyr³¹¹ のリン酸化を抑制した。TDI 誘発アレルギーモデルラットにおいて、WGE は鼻炎症状改善および、H1R 遺伝子発現亢進抑制効

果を示した。また、IL-9 遺伝子を抑制する阿波晩茶茶葉熱水抽出物 (Awa-Tea Hot Water Extract ; ATE) との併用投与により、この抑制効果は増強された。

以上の結果から、WGE には H1R および IL-33 遺伝子発現を抑制する化合物が含まれ、その作用機序は PKC δ の活性化の抑制であることが明らかとなった。また、アレルギーモデルラットにおいて、WGE は、IL-9 遺伝子発現を抑制する ATE との併用により、それぞれの単独投与よりもより高度な鼻炎症状改善効果を示すことが明らかとなった。WGE はアレルギー疾患発症に重要な H1R シグナルだけでなく好酸球性炎症発症に重要な IL-33 遺伝子発現シグナルも抑制することから、その有効成分を同定しその作用機序を明らかにすることでこれらの疾患に対する新たな治療法の開発につながると考えられた。

アトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚細胞から遊離される起痒物質の探索

○藤井 正徳、中嶋 雅幸、櫻井 千浩、田中 智之
 京都薬科大

【背景・目的】痒みは、アトピー性皮膚炎の最も重要な症状である。しかしながら、アトピー性皮膚炎の痒みのメカニズムは未だ十分に解明されておらず、特効薬もない。我々は、最近、顕著な痒み行動を特徴とする新規のアトピー性皮膚炎マウスモデルを開発した。本研究では、本モデルの痒みに関与するメディエーターを同定することを目的に、モデルマウスの皮膚から単離した細胞から遊離される起痒物質の採取を試みた。

【方法】4週齢の雌性ヘアレスマウスに、不飽和脂肪酸およびデンプンが欠乏した特殊飼料を摂食させ皮膚バリア機能低下を伴った乾燥肌を発症させた。その後、マウスの顔部、耳介部および上背部皮膚にダニ抽出タンパクを含有する軟膏を1日1回5日間塗布し(1クール)、9日間のインターバルを空けて、さらに4クール繰り返した(アトピーマウス)。なお、通常飼料を摂食させダニ軟膏塗布を行わないマウスを陰性対照とした(正常マウス)。5クール目初日の塗布前に、塗布部位の皮膚を採取し、コラゲナーゼ処置により細胞を単離した。単離した細胞を生理食塩水もしくはダニ抽出液中で30分間37℃でインキュベートした後、遠心分離して上清を回収した。回収した上清を正常マウス

の頸背部皮膚に皮内投与し、投与部位への引っ掻き行動を測定した。

【結果】ダニ軟膏の塗布5クール目において、アトピーマウスでは塗布部位に搔破痕を伴った皮膚炎が認められた。引っ掻き行動を測定したところ、アトピーマウスでは、測定したいずれの時間においても、正常マウスに比べて引っ掻き行動が多く認められたが、塗布直後1時間における引っ掻き行動が最も顕著であった。つぎに、正常マウスおよびアトピーマウスから単離した皮膚細胞を生理食塩水もしくはダニ抽出液とインキュベートした後に回収した上清を正常マウスに皮内投与して引っ掻き行動が起こるか否かを検討した。その結果、アトピーマウスから採取した皮膚細胞をダニ抽出液で処置した場合においてのみ、引っ掻き行動の増加が認められた。

【結論】アトピー性皮膚炎を発症したマウスの皮膚細胞を用いて、ダニ抗原刺激により遊離される起痒物質の採取に成功した。今後、この起痒物質を同定するとともに、痒みの発生メカニズムを薬理的に解析していく予定である。

○田中 智之¹⁾、兵頭 奈穂²⁾、安藤 里佳²⁾、井谷 光明²⁾、古田 和幸³⁾

1) 京都薬科大、2) 岡山大・薬、3) 岡山大・院医歯薬

【目的】 血球系細胞では AMP 活性化キナーゼ (AMPK) の活性化により、サイトカイン産生が抑制されることが報告されており、これはエネルギー代謝と免疫応答との連携のひとつの仕組みと考えられている。マスト細胞では、AMPK の活性化によりサイトカイン産生に加えて脱顆粒応答が抑制されるが、そのメカニズムに関しては明らかではない。本研究では AMPK の活性化剤である AICAR を用いて、脱顆粒応答のシグナル伝達のどの段階が阻害されているかを検討した。

【方法・結果】 マウス骨髄細胞を IL-3 存在下、1ヶ月培養して得られる骨髄由来培養マスト細胞 (BMMC) を用いた。IgE を介する抗原刺激、小胞体の Ca^{2+} -ATPase 阻害剤である thapsigargin (Thg) 刺激、いずれによる脱顆粒応答も AICAR の前処理により有意に抑制され、この抑制反応は AMPK 阻害剤である compound c によって解除された。刺激時のサイトゾル Ca^{2+} 濃度の増大は AICAR の前処理により抑制された。Thg 刺激は BMMC において小胞体の Ca^{2+} センサーである STIM1 の凝集、および F-actin 量の減少を促進したが、これらの応答はいずれも AICAR の前処理により抑制された。低分子量 G タンパク質の

Rho ファミリーの活性化を検討したところ、Thg 刺激は Rac1, Cdc42, RhoA の GTP 型の一過性の減少を誘導することが分かった。AICAR の前処理により、これらの Rho ファミリーの GTP 型の減少は抑制された。

【考察】 AMPK の活性化は、上流の機序が異なる、抗原刺激、Thag 刺激、それぞれの脱顆粒応答を抑制し、この際にはサイトゾルの Ca^{2+} 濃度の増大が抑制されていることが明らかとなった。また、Thg 刺激は Rho ファミリーの活性化レベルの低下、およびアクチンの脱重合を促進するが、これらはいずれも AMPK の活性化により阻害されたと考えられた。

レベチラセタムの新規標的タンパク質の同定：FosL1 活性抑制による TNF- α 発現の制御

○新留 康詞¹⁾、谷口 瑠梨¹⁾、山崎 岳²⁾、石原 康宏¹⁾

1) 広島大・院統合生命科学・生命医科学、2) 広島大・院統合生命科学・生命環境総合科学

脳内の免疫担当細胞であるミクログリアは、外的刺激により静止型から活性化型に変化する。活性化型ミクログリアは、炎症性サイトカインなどの液性因子を産生し、免疫細胞の動員やその後の組織の修復を促進する一方で、過剰な活性化は神経炎症を引き起こし、てんかんやアルツハイマー病などの様々な神経疾患の一因となる。従って、ミクログリアの過剰な炎症を抑制する薬物は神経疾患の治療・予防に有用である。当研究室では、ミクログリアの炎症反応を抑制する薬物を探索し、抗てんかん薬レベチラセタム(LEV)をその候補として見出した。そこで、本研究では、LEVのミクログリアへの作用メカニズムを検討した。研究には、静止型で培養したマウスミクログリア細胞株BV-2を使用した。LEVはリポポリサッカライド(LPS)により惹起される腫瘍壊死因子 α (TNF- α)の発現亢進を有意に抑制する一方、BV-2にはLEVの標的として知られているSV-2Aは発現していなかった。そこで、Cap analysis gene expression sequencing法によりLEVの標的となる転写因子を網羅的に探索したところ、BATF, Nrf2, FosL1, MAFF, Spicを同定した。この中で、BATFとFosL1は、Jun family proteinと二量体を組み、AP-1として転写に働くため、Nrf2, MAFF, SpicおよびAP-1について、

Luciferase assayにより転写活性を測定した。LPSによりAP-1とSpic活性が上昇し、LEVはAP-1活性のみを抑制した。また、real-time PCRにより、上記5種の転写因子のmRNAを定量すると、FosL1, MAFF, Spic mRNAがLPS処置で増加し、FosL1のみLEVの前処置により減少した。これらの結果から、LEVの標的としてFosL1に着目することとした。BV-2におけるFosL1タンパク量もmRNA量と同様、LPSにより増加し、LEVにより減少した。また、核内におけるFosL1タンパク質量も調べたところ、LPSによりFosL1が増加し、LEVにより減少することが示された。従って、FosL1の活性は、核内のFosL1タンパク質量により制御されることが示唆された。FosL1 siRNAをBV-2細胞に導入すると、LPSによるFosL1発現が大きく抑制された。このとき、炎症性サイトカインであるTNF- α の発現も有意に減少した。したがって、レベチラセタムはFosL1の発現を減少させることによって、TNF- α の発現を低下させることが明らかとなった。以上の結果より、LEVは活性化型ミクログリアに作用し、FosL1発現とAP-1活性を低下させることによって、炎症性サイトカイン発現を抑制し、神経炎症を負に制御すると考えられる。

ミクログリアにおける核内受容体 REV-ERBs の炎症制御機構の解明

○児玉 景太郎¹⁾、鶴田 真帆²⁾、武村 昌俊²⁾、岩本 桃華²⁾、中村 庸輝¹⁾、中島 一恵¹⁾、森岡 徳光¹⁾

1) 広島大・院医歯薬保健、2) 広島大・薬

【背景・目的】 ミクログリアは、中枢神経系において免疫の役割を担う重要な細胞である。その役割の一つとして炎症性サイトカインなどの産生を介して炎症反応の惹起を促すが、過剰な炎症反応は様々な神経疾患の病態形成や慢性炎症形成の原因となる。核内受容体であるREV-ERBsは転写抑制因子として機能することで、サーカディアンリズム、炎症、脂質代謝の調節などに関与することが知られている。しかしながら、ミクログリアにおける炎症反応に対するREV-ERBsの役割は未だ不明である。そこで本研究ではラット大脳皮質由来初代培養ミクログリアを用いて、炎症反応に対するREV-ERBsアゴニストの効果について検討を行った。

【方法】 Wistar系ラット新生仔(生後1日)から大脳皮質を摘出し、酵素処理分散法により混合グリア細胞を作製した。これらを1週間培養した後、振とう法によりミクログリアを単離した。ミクログリアに各種薬物を処置した後、mRNA及びタンパク質発現量の変化をreal-time PCR法及びwestern blotting法によりそれぞれ測定した。

【結果】 培養ミクログリアに対して、lipopolysaccharide(LPS; 100 ng/ml)を1時間処置することで炎症制サイト

カインであるtumor necrosis factor- α 、interleukin-1 β ならびにinterleukin-6のmRNA発現量が有意に増加した。さらにREV-ERBsアゴニストであるSR9009(1及び3 μ M)を前処置したところ、LPSによる炎症性サイトカインのmRNA発現増加反応が有意に抑制された。次に、これら炎症性サイトカイン発現に関与する細胞内シグナル伝達分子として知られるMAPキナーゼのp38及び転写因子nuclear factor kappaB(NF- κ B)活性に対するREV-ERBsアゴニストの効果を検討した。その結果、SR9009を前処置することにより、LPS刺激によるp38のリン酸化及びNF- κ Bのサブユニットであるp65のリン酸化がそれぞれ有意に抑制された。

【結論】 以上の結果より、REV-ERBsアゴニストはミクログリアにおいて炎症性サイトカインの発現抑制を介して炎症反応の制御に寄与することが明らかとなった。さらにこれらの反応メカニズムには、REV-ERBsによるp38及びNF- κ Bの活性制御が関与している可能性が示唆された。

TRPV4開口はミクログリアの活性化状態を抗炎症型へ分極させる

○榎田 沙織、富澤 恵里、三宅 崇仁、永安 一樹、白川 久志、金子 周司
 京都大・院薬・生体機能解析

【背景】 脳内の免疫担当細胞であるミクログリアは、周囲の環境に応じてその表現型が分極することが知られており。M1型と呼ばれる炎症性への分極化が長時間持続すると神経傷害性に基づく病態が惹起される一方で、M2型と呼ばれる抗炎症性への分極化により神経保護や組織修復に至ると考えられているが、両表現型を部分的に示すミクログリアも報告されていることから、その詳細の解明が求められている。当研究室では以前、マウス培養ミクログリアを用いて非選択的カチオンチャネル transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) 刺激を行うと、LPS 適用により炎症性に誘導されたミクログリアにおいて、抗炎症性サイトカインである IL10 の産生・遊離が増大することを報告した。そこで本研究では、同機構の解析を行うと共に、ミクログリアの分極化に着目し、TRPV4 の生理的意義について検討した。

【方法】 培養ミクログリアは生後1-2日齢の C57/BL6J マウス新生仔全脳より調製し、培養2-6週目に振とう法によりミクログリアを単離した。

【結果・考察】 マウス培養ミクログリアに、LPS および TRPV4 選択的アゴニストである GSK1016790A を共処置

することで IL10 産生・遊離が増大するが、その際にミクログリアの分極マーカーの発現を定量的 RT-PCR で調べたところ、CD86 および MHC II の mRNA 発現が増加することが明らかになり、M2b 型に活性化されることが示唆された。そこでミクログリアを M2b 型へ誘導する代表的な刺激である LPS と IgG 免疫複合体 (ovalbumin + anti-ovalbumin IgG) を共処置したところ、IL10 の産生・遊離が増加すること、その増加は TRPV4 選択的アゴニストである GSK2193874 の処置により消失することが明らかとなった。また、細胞内 Ca²⁺ 蛍光イメージングにより、免疫複合体によって細胞内 Ca²⁺ 流入が惹起され、その応答は GSK2193874 の処置により抑制されることも見出された。以上の結果より、TRPV4 は LPS/免疫複合体によるミクログリアの M2b 型への分極化に関与することが示された。

ミクログリアに対する骨髄造血幹細胞由来ミクログリア様細胞から分泌される TGF-β 1 の作用解析

○黒田 絵莉子¹⁾、西村 周泰²⁾、戸田 侑紀¹⁾、芦原 英司¹⁾、高田 和幸²⁾
 1) 京都薬科大・薬・病態生理、2) 京都薬科大・薬・統合薬科

アルツハイマー病 (AD) は進行性の認知機能障害を主症状とした神経変性疾患である。AD の発症機序として、アミロイドβタンパク質 (Aβ) の脳内への異常蓄積が AD 発症の引き金と考えられている。一方、ミクログリアは脳の免疫担当細胞であり、脳内 Aβ の貪食除去機能を有している。これまでに我々は、ミクログリア様 (BMDML) 細胞を骨髄造血幹細胞から分化誘導する手法を確立し、AD モデルマウスの脳内へ移植すると、脳内 Aβ の減少および認知機能障害の改善が見られることを報告している (J. Alzheimers Dis., 64, 563-585, 2018)。そこで、本研究では、新規 AD 細胞治療法の開発を目指し、BMDML 細胞移植が及ぼす脳内環境への影響を調べるため、BMDML 細胞が分泌する液性因子に着目し、内在性ミクログリアの機能変化を解析した。

マウス骨髄造血幹細胞に macrophage-colony stimulation factor (M-CSF) を処置して BMDML 細胞を作製し、内在性ミクログリアとしてマウス新生仔脳から調製した初代培養ミクログリアを使用した。初代培養ミクログリアに BMDML 細胞の培養上清を処置したところ、Aβ 貪食機能が有意に促進された。そこで、培養上清に含まれるサイトカインを

enzyme-linked immunosorbent assay-based cytokine array を用いて解析したところ、transforming growth factor-β1 (TGF-β1) が同定された。BMDML 細胞での TGF-β1 の mRNA の発現および初代培養ミクログリアでの TGF-β receptor type 1 (TGF-β R1) の発現が確認され、さらに、TGF-β 1 リコンビナントタンパク質の処置により、ミクログリア内の Smad2/3 がリン酸化され、Aβ 貪食機能が促進された。また、TGF-β R1 阻害薬 SB525334 処置により、この作用は抑制された。

以上より、脳内移植した BMDML 細胞は自身の Aβ 貪食機能に加えて、TGF-β 1 分泌を介する内在性ミクログリアの Aβ 貪食機能を促進させ、脳内 Aβ 除去に機能することが示唆された。BMDML 細胞を用いた AD 細胞治療法の臨床応用に向けた、更なる基礎研究の進展が期待される。

○平岩 茉奈美^{1,2)}、深澤 和也^{1,2)}、北口 裕香^{1,2)}、山田 孝紀¹⁾、金田 勝幸²⁾、平尾 敦³⁾、
檜井 栄一¹⁾

1) 岐阜薬科大・薬理、2) 金沢大・院薬・薬理、3) 金沢大・がん研・遺伝子染色体

膠芽腫 (glioblastoma=GBM) はグリオーマで最も悪性度が高く、あらゆるがんの中で最も予後不良の中枢神経系腫瘍である。手術・放射線治療・化学療法を組み合わせた集学的治療によっても、ここ約半世紀もの間、著明な予後の改善が認められておらず、根本的な治療法開発が望まれている。私たちは E3 ユビキチンリガーゼ SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 2 (Smurf2) のリン酸化修飾 (Smurf2^{Thr249}) が、グリオーマ幹細胞 (Glioma initiating cell=GIC) の幹細胞性とグリオーマ進展に関与することを明らかとし、第 92 回日本薬理学会年会にて発表した。本研究では、Smurf2^{Thr249} リン酸化修飾による GIC 幹細胞性とグリオーマ進展の調節メカニズムについて詳細に検討した。Smurf2 (T249A) 変異体 (リン酸化不活性化体) および Smurf2 (T249E) 変異体 (リン酸化活性化体) を導入したヒト GIC を用い、Smurf2 下流因子の解析を行った。さらに Smurf2 変異体と下流因子が、ヒト GIC のスフィア形成能およびグリオーマモデルマウスの腫瘍形成能に与える影響を解析した。ヒト GIC における Transforming growth factor-beta receptor type 1 (TGFB1) のタンパク質レベルは、Smurf2 (T249A) 変異体導入 GIC で上昇

し、Smurf2 (T249E) 変異体導入 GIC で減少した。Smurf2 (T249A) 変異体導入によりヒト GIC のスフィア形成能の上昇が認められたが、TGFB1 ノックダウンにより、その上昇は抑制された。さらに、グリオーマモデルマウスを用いた検討においても、TGFB1 をノックダウンすることで、Smurf2 (T249A) 変異体導入による腫瘍形成能の亢進が有意に抑制された。以上の結果から、Smurf2 のリン酸化修飾 (Smurf2^{Thr249}) は、TGFB1 のタンパク質レベルの調節を介して、GIC の幹細胞性およびグリオーマの悪性・進展度に関与する可能性が示唆された。

ライソソームの正常機能を保証する V-ATPase の分子生物学的解析

○岡部 康教、森原 啓文、友田 紀一郎、朝日 通雄
大阪医科大・医・薬理

ライソソームは脂質や糖の代謝、不要蛋白質などの分解、細胞内栄養状態に依存したシグナル伝達経路の制御、を担う重要な細胞内小器官である。その機能を保証するのが Vacuolar-type H⁺-ATPase (V-ATPase) と呼ばれる ATP 依存的に駆動するプロトンポンプ蛋白質複合体である。近年、この V-ATPase の機能異常により、ライソソーム病やアルツハイマー病などの様々な疾患が発症することが明らかになってきた。本研究の目的は、V-ATPase の機能解析を通して、それらの疾患の治療戦略の基礎を築くことにある。我々は V-ATPase のサブユニットの1つである ATP6V1B2 (以下 V1B2) の発現をコントロールできる人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 株をゲノム編集により樹立した。この細胞株を用いて V1B2 の発現を抑制すると、ライソソーム内 pH 上昇、細胞内不要物分解を担うオートファジー異常や細胞増殖能の低下が認められた。この状態の細胞に V1B2 の全長蛋白質をコードする遺伝子を導入すると、それらの異常がほぼ完全に解消された為、それらの異常が確かに V1B2 の発現抑制により引き起こされていると結論した。現在、幾つかの V1B2

変異体を作製し、どの蛋白質領域がそれぞれの異常に関与しているかを検討中である。

炎症性腸疾患に関連するユビキチンリガーゼ RNF183 はリソソームでの DR5 の分解および TRAIL によって誘導されるカスパーゼの活性化を促進する

○呉 艶、岡元 拓海、今泉 和則、金子 雅幸
広島大・院医

ユビキチンリガーゼ (E3) はユビキチン化機構において最も重要な酵素であり、基質の認識やユビキチン鎖の形成など基質の分解や機能調節に重要な役割を果たしている。ユビキチンリガーゼ RNF183 は、潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease, IBD) 患者の大腸や、トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) で誘導した IBD モデルマウスの大腸において発現が増加していることが最近報告されている。そこで、同じく大腸炎を誘導するデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 用いた IBD モデルにおける RNF183 発現増加について解析し、RNF183 の分子メカニズムの解明を本研究の目的としている。

IBD モデルマウスは、C57BL/6 (雄、8週齢) に 3.5% DSS を 1, 3, 5 日間自由飲水させることで作成した。定量的 PCR により、RNF183 の mRNA の発現量は DSS 投与に伴って 1日目から有意に増加し、5日間まで経時的に増加することが判明した。さらに、DSS 投与 5日目では IL-1 β , TNF- α などの炎症マーカーは顕著に増加したものの、DSS 投与 1日目では有意な増加は認められなかった。このことから RNF183 は比較的早期に発現が上昇してい

ることがわかり、炎症に対する二次的応答ではないことが示唆された。つぎに、ショットガンプロテオーム解析により RNF183 の基質の同定を試みたところ、TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) のレセプターである DR5 が同定された。そこで、RNF183 による DR5 のユビキチン化様式を調べたところ、RNF183 は DR5 に対してエンドサイトーシスやライソゾームへの輸送を促進する K63 型ポリユビキチン鎖を形成し、実際に RNF183 はライソゾームへの DR5 輸送を促進することが明らかとなった。つぎに、TRAIL によるカスパーゼの活性化への RNF183 の影響を検討したところ、TRAIL によって誘導されたカスパーゼ-8 およびカスパーゼ-3 の活性化を RNF183 は促進することが判明した。以上のことから、IBD において発現が増加する RNF183 は、DR5 のライソゾームへの輸送とカスパーゼの活性化を促進することで IBD の病態に関与する可能性が示唆された。

C-13

オートファジー関連因子 Atg1 の MAPK 経路および
Ca²⁺/カルシニューリンシグナル制御因子としての新たな働き

○嶋田 絵理香、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子
近畿大・薬

胞増殖を司る ERK MAPK 経路は多くのがん細胞で異常に活性化しており、ERK 経路の活性化調節機構の解明は、がん治療や予防戦略の確立に極めて重要である。分裂酵母において ERK MAPK 経路と相同な Pmk1 MAPK 経路はカルシニューリン (CN) と拮抗的に Ca²⁺ ホメオスタシスを調節する。当研究室では Pmk1 経路と CN の拮抗関係を用いた遺伝学的手法により、MAPK シグナル経路の構成因子や制御因子を多数同定している。今回新たな MAPK 経路調節因子としてオートファジー必須因子の中で唯一のキナーゼである Atg1 を同定した。オートファジーは細胞の恒常性 (ホメオスタシス) に関与する一方、多くのがん細胞における生存戦略としても重要な意義をもつが、癌化シグナルとオートファジーの関わりはほとんど明らかにされていない。そこで、我々は MAPK シグナルとオートファジーの機能的な関わりを明らかにしようと試みた。Pmk1 の活性化に Atg1 の与える影響を調べたところ、Atg1 KO 細胞では正常細胞と比較して各種ストレスに応答した Pmk1 のリン酸化が顕著に低下していた。そこで、富栄養条件における細胞内 Ca²⁺ 濃度を測定した結果、Atg1 KO 細胞においては、Pmk1 KO 細胞と同様に

正常細胞と比べて細胞内 Ca²⁺ 濃度が顕著に低下した。一方、オートファジーが誘導される窒素源飢餓条件では Ca²⁺ 濃度が上昇するが、CN KO 細胞では正常細胞よりも顕著な Ca²⁺ 濃度の上昇を示したことから、さらに窒素源飢餓条件において CN のレポーターである CDRE (calcineurin-dependent response element) 活性が顕著に上昇していたことから、CN は窒素源飢餓条件における細胞内 Ca²⁺ 濃度の調節を介した Ca²⁺ ホメオスタシスに関与することが明らかになった。興味深いことに、Atg1 KO 細胞における CN 活性は窒素源の有無にかかわらず、顕著に低下していた。以上の結果から、Atg1 は、富栄養条件においても窒素源飢餓条件においても、Ca²⁺ 濃度の調節に関わり、MAPK シグナル伝達経路、および Ca²⁺/CN シグナルの活性制御因子として働くことが示唆された。現在、Atg1 のキナーゼ活性が MAPK 経路や CN シグナルの活性調節に関与するかの検証を行っているのでその結果も合わせて報告する。

C-14

Identification of miRNA regulating the expression of cancer-type amino acid transporter LAT1 : its potential as an antionco-miRNA

○劉 星明¹⁾、大垣 隆一¹⁾、岡西 広樹¹⁾、奥田 傑¹⁾、金井 好克^{1,2)}

1) 大阪大・院医・生体システム薬理、2) 大阪大・先導的学際研究機構・生命医科学融合フロンティア研究部門

Rapid growth and proliferation of cancer cells are dependent on the enhanced cellular uptake of nutrients such as glucose and amino acids. L-type amino acid transporter 1 (LAT1) is known as a “cancer-type” amino acid transporter that preferentially transports most of the essential amino acids and supports cancer growth. LAT1 is highly upregulated in cancers of various tissue origins, in contrast to its limited expression in normal tissues. Gene expression analysis using large-scale RNA-seq data from the Cancer Genome Atlas (TCGA) and Genotype-Tissue Expression (GTEx) demonstrated that LAT1 mRNA is significantly increased in 13 out of 33 cancer types compared to the corresponding normal tissues ($|\text{Log}_2\text{FC}| > 1, p < 0.01$), indicating that the dysregulation at the level of transcripts accounts for, at least in part, the upregulation of LAT1 in certain types of cancer.

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNA of ~22 nucleotides involved in silencing of specific gene targets. Through its binding to the target sequence in 3' untranslated region (3'UTR) of mRNAs, miRNA induces mRNA deg-

radation or inhibition of translational initiation. To reveal novel molecular mechanisms regulating the expression of LAT1, we searched for LAT1-targeting miRNAs. By the analysis using open access online tools of miRNA target prediction, we found a candidate miRNA broadly conserved among vertebrates. By luciferase reporter assay, it was confirmed that the miRNA targets 3'UTR of LAT1 mRNA. Transfection of the miRNA mimic significantly decreased the amount of LAT1 mRNA in several cancer cell lines from different tissue origins. Recently, many studies have reported that miRNAs play fundamental roles in tumorigenesis and cancer progression, via directly or indirectly regulating the expression of various oncogenes or tumor suppressors. Our results suggest that the miRNA could be a novel antionco-miRNA targeting cancer-type amino acid transporter LAT1.

大規模医療情報データベースを活用したシスプラチン誘発腎障害に対する新規予防薬の探索とその有効性の検証

○前川 晃子¹⁾、合田 光寛²⁾、吉田 愛美¹⁾、神田 将哉^{1,2)}、生田 賢治²⁾、新村 貴博¹⁾、石澤 有紀³⁾、座間味 義人^{1,2)}、中馬 真幸⁴⁾、武智 研志⁴⁾、濱野 裕章²⁾、岡田 直人²⁾、堀ノ内 裕也³⁾、池田 康将³⁾、石澤 啓介^{1,2)}

1) 徳島大・院医歯薬・臨床薬理学、2) 徳島大学病院・薬剤部、3) 徳島大学 AWA サポートセ、4) 徳島大学病院・臨床試験管理セ

【目的】 シスプラチンは多くの固形癌の標準治療に用いられているが、副作用として腎障害の発生頻度が高いことが知られている。シスプラチン誘発腎障害の予防に推奨される薬剤はなく、大量輸液による水分負荷が行われているが、患者への負担も大きく、腎障害を完全には防ぐことができないため、新しい予防法の確立が求められている。そこで、本研究では、大規模医療情報データベース解析を用いた腎障害予防薬候補の探索、およびその薬剤の有効性を検証するための基礎的実験を行なった。

【方法】 FAERS(有害事象自発報告データベース)を用いて、既存薬の中からシスプラチン誘発腎障害を軽減させる可能性のある薬剤を抽出し、腎障害予防薬候補とした。HK2細胞(ヒト近位尿細管細胞)を用いて、シスプラチン誘発細胞障害に対する予防薬候補の影響を検討した。さらに、C57BL6マウスを用いてシスプラチン誘発腎障害モデルを作製し、各種腎機能パラメーターおよび病理学的評価により腎障害の程度を評価し、予防薬候補薬剤の腎障害抑制効果を検証した。

【結果】 FAERS解析によって、シスプラチンとの併用により腎障害の抑制効果が示唆される既存医薬品としてフェノフィブラートが抽出された。HK2細胞を用いた検討において、フェノフィブラート併用によりシスプラチンによる細胞生存率の低下が有意に改善された。シスプラチン投与により作製した腎障害モデルマウスにフェノフィブラートを4日間投与したところ、シスプラチン誘発腎障害を有意に抑制することが明らかになった。

【結論】 本研究の結果より、FAERS解析により抽出した既存医薬品がシスプラチン誘発腎障害の予防薬になる可能性が示唆された。

○西中 崇¹⁾、山崎 由衣¹⁾、丹羽 淳子¹⁾、和氣 秀徳²⁾、森 秀治³⁾、西堀 正洋²⁾、高橋 英夫¹⁾

1)近畿大・医、2)岡山大・院医歯薬、3)就実大・薬

【目的】糖尿病病態時には、過剰な血管新生が誘導され、脆弱な血管が形成されることによって、糖尿病網膜症などの合併症を増悪することが知られている。また、高血糖状態が持続することによって血液や組織中に advanced glycation end products (AGEs) が蓄積し、組織障害を誘導することが知られている。これまでに、AGEs は血管内皮細胞に取り込まれること、糖尿病病態における過剰な血管新生に関与することが知られている。しかしながら、血管内皮細胞における AGEs の細胞内取り込みによる血管管腔形成の促進機序は不明である。本研究では、AGEs の中でも毒性が強いとされている glycolaldehyde 由来の AGE3 を用いて、血管管腔形成の促進作用について検討を行った。

【方法】マウス由来血管内皮細胞 (b. End5) をマトリゲル上に播種し、AGEs 添加16時間後における血管管腔形成を共焦点顕微鏡により観察し、定量化した。b. End5 細胞における AGE3 の細胞内取り込みは、Alexa Fluor 488-標識 AGE3 を用いてフローサイトメトリーによって解析した。各種阻害剤は AGE3 と共処置した。

【結果】AGE3 は、濃度依存的に b. End5 の細胞内に取り

込まれ、血管管腔形成を促進した。エンドサイトーシス阻害剤である sucrose、chlorpromazine は、AGE3 の細胞内取り込みを抑制し、管腔形成促進作用を抑制した。同様に、nuclear factor-kappaB (NFκB) の阻害剤である pyrrolidine dithiocarbamate (PDTTC) は AGE3 の細胞内取り込みならびに管腔形成促進作用を抑制した。一方、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) の阻害剤である LY294002 は AGE による管腔形成促進作用は抑制したが、b. End5 による AGE3 の細胞内取り込みには影響しなかった。

【考察】以上の結果から、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた AGE3 は NFκB あるいは PI3K 細胞内シグナル経路を活性化させ、血管管腔形成を促進していることが示唆された。

○喜多 紗斗美^{1,2)}、田頭 秀章²⁾、喜多 知²⁾、品山 愛¹⁾、岩本 隆宏²⁾

1)徳島文理大・薬、2)福岡大・医

【目的】肺高血圧症は、末梢肺動脈の異常な収縮やリモデリングなどにより肺動脈圧が持続的に上昇し、右心不全へと進行する予後不良の難治性疾患である。現在、 PGI_2 製剤、エンドセリン受容体拮抗薬および PDE5 阻害薬が治療薬として用いられているが、進行した肺高血圧症などではいまだ予後不良である。肺高血圧症の病態機序には多因子が関与することなどから、さらなる病態機序の解明と新たな治療薬の開発が必要であると考えられている。ミトコンドリアは ATP を産生するとともに、アポトーシスの誘導、活性酸素種 (ROS) の生成および細胞内 Ca^{2+} の貯蔵・制御など、細胞の生死に関わるが、近年、肺高血圧症における役割が注目されている。本研究では、ミトコンドリアからの Ca^{2+} 排出を担う $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCLX) の、肺高血圧症の発症・維持への関与について検討した。

【方法】NCLX 遺伝子欠損マウス (NCLX-KO マウス)、血管特異的 NCX1 高発現マウス (hSMA-NCLX1-Tg マウス) および野生型マウスを用いて、10% 低酸素条件で4週間飼育することにより低酸素誘発肺高血圧モデルを作製した。その後、頸静脈からのカテーテル挿入により、麻酔下での右室収縮期圧を測定した。また、右室心筋重量比

(RV/(LV+S)) および肺病理組織の肺動脈筋性化率を評価した。対照群として、通常飼育 (21% 酸素) した同週齢の各マウスを用いた。

【結果・考察】4週間の低酸素飼育により、NCLX1-KO マウスの右室収縮期圧は、野生型マウスに比べて有意な抑制が見られた。一方、hSMA-NCLX1-Tg マウスでは右室収縮期圧の上昇が増強された。また、低酸素処置による右室心筋重量比は全てのマウスにおいて同程度であった。さらに、NCLX 阻害薬である CGP37157 を低酸素飼育したマウスに投与したところ、右室収縮期圧の上昇が有意に抑制された。以上の結果より、低酸素誘発性肺高血圧症の発症には、血管平滑筋 NCLX の発現増加や活性亢進が関与することが示唆された。

○狩野 泰輝、菅沼 由唯、池本 和久、一瀬 千穂、近藤 一直
藤田保健衛生大・医

【目的】 小動物に対する実験用麻酔として従来ペントバルビタールが用いられていたが、倫理的観点から近年これが回避され始めた。それに代わる新しい手法としてメデトミジン(a_2 アゴニスト)・ミダゾラム(ベンゾジアゼピン系催眠薬)・ブトルファノール(麻薬拮抗性鎮痛薬)を組み合わせた三種混合麻酔(MMB)が採用されつつあるが、循環系をはじめとする全身への影響についてはデータの蓄積が待たれている。そこで今回、MMBが血小板凝集能及び血液凝固能に与える影響を旧来型麻酔との比較により評価し、止血血栓形成研究における麻酔法としての妥当性を検討する。**【方法】** ICRマウス、6ヵ月齢の雄を使用した。MMBはミダゾラム4mg/kg、ブトルファノール5mg/kgとし、施設により2種の異なる濃度が用いられているメデトミジンに関しては0.3mg/kgの低用量群及び0.75mg/kgの高用量群の2群を設定した(0.3MMB及び0.75MMB)。またコントロールとしてペントバルビタール(80mg/kg、pent)を用い、クエン酸添加採血を行った。血液の低速遠心により多血小板血漿(PRP)を回収し血小板数を25万/ μ Lに調整した後、コラーゲン(0.5~1.0 μ g/mL)及びADP(1~5 μ M)を凝集惹起剤とし、光透過法で測定した。またペントバルビタール投与の5分前にメデトミジンのみを併用し

た群(+med群)及びブトルファノールのみを併用した群(+but群)から採血し、それぞれ血小板凝集能を測定した。さらに凝固能の指標としてプロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を比濁法で測定した。

【結果】 コラーゲン惹起性血小板凝集は、コラーゲン濃度0.8 μ g/mLでpent群の最大凝集率 $37.2 \pm 7.7\%$ に対し0.3MMB及び0.75MMB群では 59.2 ± 5.0 , $86.6 \pm 2.9\%$ と有意な増強が見られた。またADP凝集に関してもADP濃度5 μ Mでpent群の曲線下面積 $3,664 \pm 192$ に対し0.3MMB及び0.75MMB群は $6,130 \pm 352$, $5,171 \pm 417$ と、優位な増強が見られた。またpent群と+but群間に差がなかった一方で、pent群と+med群間ではコラーゲン、ADPとも有意に凝集能が増強した。PT、APTTに差は見られなかった。

【考察】 pent群に比べMMB群では血小板凝集能の増強が見られた。血小板上にも存在する a_2 受容体は血小板活性化シグナルを発生させることが知られている。今回の結果から、三種混合麻酔により処置した動物で測定する際は、血小板凝集能が旧来法と比べ高値となることを考慮する必要がある。

○見尾 光庸、原(野上) 愛、神田 翔磨、河村 忠、塚正 洋平、岡本文
就実大・薬

【緒言】 肝類洞閉鎖症候群(SOS)は、骨髄幹細胞移植後に併発する重篤な合併症の1つであり、busulfan(BU)やcyclophosphamide(CY)などの前処置薬が原因になると考えられている。現在のところ有効な治療法や予防法はなく、適切な抗腫瘍薬誘発SOSの動物モデルも確立されていない。そこで、従来よりSOSモデルの作製に使用されているmonocrotaline(MCT)誘発SOSモデルと骨髄移植の際に用いられるBU+CYを投与した際の肝臓の変化について検討した。

【実験方法】 MCT単独群では6週齢の雄性Wistar系ラットに対してMCTを単回経口投与した。BU+CY群では、BU20mg/kgを4日間投与後にCY40mg/kgを2日間、いずれも腹腔内投与した。MCTとBU+CYを併用した群では、投与初日に単独で肝機能に影響を示さない用量のMCTを経口投与するとともにBUを4日間投与し、続いてCYを2日間連続で腹腔内投与した。薬物投与から10日後に血液ならびに肝臓を採取した。肝臓の標本はHE染色並びにMasson染色により観察を行った。生存した一部の動物について、右心耳より硫酸バリウムとホルマリンの混液を灌流し、動物用CTを用いた肝血管の画像化をおこなった。

【実験結果】 MCT単独投与では、25mg/kgおよび50mg/kgでは死亡例はなく、100mg/kgでは投与後3日目より死

亡例があり、最終日まで生存した動物は30%であった。MCT100mg/kgの場合のみ、ALT、ASTは有意に上昇し、赤血球数、白血球数、血小板数の低下も顕著であった。肝臓の標本を観察したところ、MCT50mg/kgでも類洞閉塞が認められ、100mg/kgでは肝全体が線維化していたが、特に中心静脈付近が顕著であった。BU+CY群は90%の動物が生存し、生存した動物では白血球数・血小板数が顕著に低下したが、肝機能の低下は認められなかった。単独では死亡例のなかったMCT50mg/kgをBU+CYと併用したところ、最終生存率は37.5%となり、生存した動物では有意な肝機能の低下と骨髄抑制が認められた。肝組織切片では、BU+CY群は類洞の拡張と中心静脈内皮の脱離が観察された。MCT+BU+CY群では、軽度な肝実質細胞の萎縮と中心静脈内皮の脱離など、MCT群の特徴とBU+CY群の特徴の両方が認められた。造影剤である硫酸バリウムとともに灌流固定した肝臓を動物用CTで観察した結果、肝血管の閉塞を画像化することができた。

【考察】 今回の実験より、MCTによるSOSモデルは類洞の閉塞が顕著である一方で、BU+CYでは類洞の拡張と中心静脈内皮の脱落がより顕著であるという違いがあることから、両者によるSOSは組織学的な特徴が異なっていることが示唆された。

○中野 大介、西山 成
香川大・医

【背景】 腎移植において、ドナーの腎ネフロン数は移植により約50%減少する。しかし、腎移植ドナーの腎機能は、移植前と比べて50%よりも高い値で推移する。これは残存ネフロンにおいて1ネフロン当たりが担う機能が移植前よりも代償的に高くなることに起因すると言われている。この代償機能の発揮はドナーのみでなくレシピエント側移植腎にとっても重要と考えられる。一方で、レシピエントにおいて好発する病態のひとつに貧血がある。今回我々は、貧血がネフロンロス後の腎代償性機能に与える影響を検討した。

【方法】 エリスロポエチン欠損(EPO-KO)マウスを用い、ネフロンロスは片腎摘により行った。片腎摘1および4週間後におけるクレアチニンクリアランスと腎肥大を測定した。

【結果】 片腎摘1週間後における代償機能はEPO-KOマウスと野生型で差は観られなかった。片腎摘4週間後において、EPO-KOマウスにおいて、クレアチニンクリアランスが片腎摘前と比べ50%以下まで下がる例が見受けられ、腎肥大も破綻している例が観察された(23例中11例)。野生型マウスは全てのマウスにおいて代償機能が発揮されていた(12例)。EPO欠損は代償機構の成否にかかわらず

腎血流へ有意な影響は与えなかったが、代償失敗例において、mTOR-S6-細胞肥大の経路に障害が生じていた。エリスロポエチン受容体全身欠損マウスに対して、造血細胞へのエリスロポエチン受容体導入を行い救済したマウスにおいては代償機能に問題は観られなかった。したがって、EPO-KOマウスにおける変化は、貧血によるものだと考えられる。

【結論】 貧血はネフロンロスに伴う代償性反応の長期的維持を破綻させる。

**第 136 回日本薬理学会近畿部会
事前登録者名簿**

事前登録者名簿

2019年11月1日現在

○学術評議員、懇親会参加者

富山大院・薬・応用薬理学	○久米 利明		
岐阜薬大・薬理	○檜井 栄一	平岩 茉奈美	
岐阜薬大・薬効解析	○中村 信介	石田 和嗣	
岐阜薬大・バイオメディカルリサーチ	大津 航		
金沢大・医薬保健域・薬・薬理	○金田 勝幸	○出山 諭司	
金沢大	二井谷 和平		
愛知医科大・医・薬理	○岡田 尚志郎		
愛知学院大・歯・薬理	濱村 和紀		
名古屋市大院・薬・病態解析	鳥内 皐暉		
名古屋大院・医・附属病院薬剤部	○山田 清文	○永井 拓	澤幡 雅仁
名古屋大院・創薬科学・細胞薬効解析	○小坂田 文隆		
藤田医科大・医・薬理	○一瀬 千穂	菅沼 由唯	
藤田保健衛生大・医・薬理	○近藤 一直	狩野 泰輝	
鈴鹿医療科学大・薬・薬理動態	郡山 恵樹	○及川 弘崇	那須 隆斗
京都府立医科大院・医・RI センター	○勝山 真人		
京都府立医科大院・医・病態分子薬理	○矢部 千尋	○衣斐 督和	
京都大院・医・薬剤部	○中川 貴之		
京都大・学術研究支援室	○松岡 信也		
京都大院・薬・生体機能解析	○金子 周司	○白川 久志	○永安 一樹
	安藤 千紘	栗田 沙織	
京都薬科大・薬学部(本校舎)薬・病態生理	黒田 絵莉子		
京都薬科大・薬学部(本校舎)薬・薬理	○田中 智之	○藤井 正徳	
京都薬品工業(株)・創薬研究部	○北尾 達哉	○三池 知紘	上田 将信
	高橋 健司		
立命館大・薬・病態薬理	○天ヶ瀬 紀久子		
立命館大・薬・薬効解析科学	○北村 佳久		
大阪医科大・医・薬理	○朝日 通雄	岡部 康教	
大阪市立大院・医・分子病態薬理	○富田 修平		
大阪大谷大・薬・薬理	○水口 博之	○道永 昌太郎	
大阪大院・医・子どものこころの分子統御機構研究センター	○早田 敦子		
大阪大院・医・生体システム薬理	○金井 好克	○奥田 傑	○大垣 隆一
	劉 星明		

大阪大院・医・分子・細胞薬理	○ <u>稲野辺 厚</u>		
大阪大院・歯・薬理	○ <u>田熊 一敬</u>	○ <u>中澤 敬信</u>	
大阪大院・薬・神経薬理	○ <u>橋本 均</u> 塚田 信司	○ <u>新谷 紀人</u> 山浦 港生	○ <u>笠井 淳司</u>
大阪大院・薬・臨床薬効解析	○ <u>藤尾 慈</u>		
大阪大院・薬・薬剤学分野	○ <u>吾郷 由希夫</u>		
大阪大・免疫学フロンティア	○ <u>西川 恵三</u>		
大阪府大院・生命環境科学・応用薬理	○ <u>東 泰孝</u>		
大阪薬科大・薬品作用	加藤 将貴	Higor Alves Iha	
近畿大・医・薬理	○ <u>西中 崇</u>		
近畿大・薬・細胞生物	○ <u>原 雄大</u>		
近畿大・薬・病態薬理	○ <u>川畑 篤史</u> 小池 寧々	○ <u>関口 富美子</u> 平本 志於里	○ <u>坪田 真帆</u> 宮本 朋佳
近畿大・薬・分子医療・ゲノム創薬	嶋田 絵理香	濱田 直弥	水野 綾美
摂南大・学長室学長付	○ <u>喜多 大三</u>		
摂南大・薬・機能形態	○ <u>倉本 展行</u>	○ <u>宇野 恭介</u>	東 紘史
摂南大・薬・複合薬物解析	○ <u>荒木 良太</u>		
摂南大・薬・薬物治療	○ <u>前田 定秋</u> 山室 晶子	○ <u>吉岡 靖啓</u> 柴垣 郁弥	○ <u>石丸 侑希</u>
摂南大・薬・薬理	○ <u>荻田 喜代一</u> ○ <u>尾中 勇祐</u>	○ <u>米山 雅紀</u>	○ <u>山口 太郎</u>
摂南大・薬・薬効薬理	○ <u>奈邊 健</u>	北谷 和之	松田 将也
摂南大・理工・病態薬理	○ <u>居場 嘉教</u>	村居 宏樹	
扶桑薬品工業(株)・研究開発センター	○ <u>西川 裕之</u>		
奈良県立医科大・医・薬理	○ <u>吉栖 正典</u>		
和歌山県立医科大・医・薬理	○ <u>木口 倫一</u>		
神戸学院大・薬・臨床薬学	松浦 涉		
神戸大・医・薬理	○ <u>古屋敷 智之</u> 轟 翔	○ <u>北岡 志保</u>	谷口 将之
神戸薬科大・薬理	○ <u>小山 豊</u>	○ <u>泉 安彦</u>	
武庫川女子大・薬・薬理 I	○ <u>中村 一基</u>		
川崎医大・薬理	○ <u>岡本 安雄</u>		
岡山大院・薬・組織機能修復	○ <u>宝田 剛志</u>	山田 大祐	
岡山大院・薬・生体機能分析	金城 達弥		

岡山理科大・理・臨床生命	○橋川 成美	大塚 青海
就実大・薬・医療薬学部門・生体情報学	○森 秀治	
就実大・薬・応用薬学・生体情報	渡邊 政博	
就実大・薬・応用薬学・薬効解析	○見尾 光庸	○原(野上)愛
広島国際大・薬・病態薬理	○石原 熊寿	
広島大院・医歯薬保健・神経薬理	○酒井 規雄	本池 芹佳
広島大院・医歯薬保健・治療薬効	○小澤 光一郎 吉井 美智子	○細井 徹 Isnani Preninka Arini 竹野 恭子
広島大院・医歯薬保健・分子細胞情報	吳 艶	
広島大院・医歯薬保健・薬効解析科学	○森岡 徳光 高田 直樹	○中村 庸輝 児玉 景太郎
広島大院・総合科学・分子脳科学	川野 真慈	
広島大院・統合生命科学	○石原 康宏	新留 康詞
徳島大院・薬・臨床薬理	前川 晃子	
徳島大院・薬・病院薬剤部	○合田 光寛	
徳島文理大・香川薬・薬理	久保山 和哉	宮澤 徹
徳島文理大・薬・薬理	○喜多 紗斗美	
香川大・医・薬理	○西山 成	○中野 大介

謝 辞

株式会社 REC

学校法人医学アカデミー

京都薬品工業株式会社

株式会社島津理化

ゼリア新薬工業株式会社

株式会社ニチホス

阪神調剤ホールディング株式会社

株式会社メディカル一光

(50音順 敬称略、2019年10月29日現在)

本学会の開催にあたり、上記企業・団体のご協賛をいただきました。
ここに心より感謝の意を表します。

第136回日本薬理学会近畿部会

部会長 荻田 喜代一

2019年11月

第136回日本薬理学会近畿部会
プログラム・要旨集

部会長：萩田 喜代一

事務局：摂南大学薬学部薬理学研究室
米山 雅紀
〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1
TEL：072-866-3111
E-mail：jpskinki136@pharm.setsunan.ac.jp

出 版：株式会社セカンド
〒862-0950 熊本市中央区水前寺4-39-11 ヤマウチビル1F
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025
<https://secand.jp/>

