The 4th Kuroshio Conference in OKINAWA

# 第4回 黒潮カンファレンス

プログラム・抄録集

## 未来を拓く新世代薬理学

会期 2019年11月15日(金)

会場 琉球大学大学会館(全保連ステーション)
沖縄県中頭郡西原町千原1

実行委員長 筒井 正人 琉球大学大学院医学研究科薬理学 教授

The 4th Kuroshio Conference in OKINAWA

# 第4回 黒潮カンファレンス

プログラム・抄録集

# 未来を拓く新世代薬理学

会期 2019年11月15日(金)

会場 琉球大学大学会館
（全保連ステーション）
沖縄県中頭郡西原町千原1

実行委員長 筒井 正人
琉球大学大学院医学研究科薬理学 教授

第4回 黒潮カンファレンス事務局

琉球大学大学院医学研究科薬理学
〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町上原207番地
TEL 098-895-1135 FAX 098-895-1411
E-mail: pharmaco@w3.u-ryukyu.ac.jp

# ご 挨 拶

第４回黒潮カンファレンス
実行委員長　**筒井 正人**
琉球大学大学院医学研究科薬理学 教授

第４回黒潮カンファレンスを、2019年11月15日（金）、琉球大学において開催させていただくことになりました。

黒潮カンファレンスは、薬理学に関する学理および応用の研究についての知識の普及、ならびに会員相互および内外の関連学会との連携協力を行うことにより、薬理学の進歩をはかり我が国の学術文化の発展に寄与することを目的に、2016年に設立された学会です。黒潮カンファレンスでは、全国から研究者が一堂に会し、薬理学に関する最新の研究成果を発表・討論し活発な情報交換を行っています。

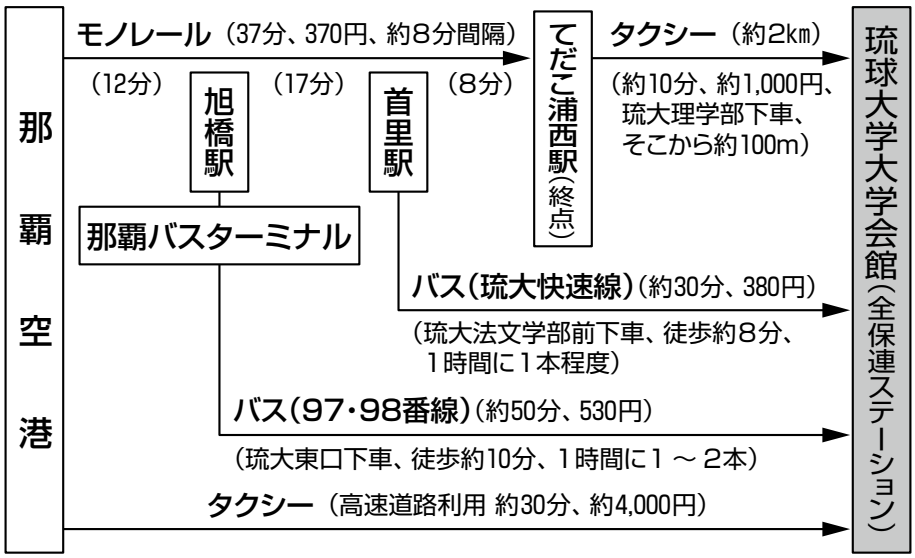
第１回目（2016年）の黒潮カンファレンスは千葉大学大学院医学研究院薬理学の安西尚彦教授が実行委員長を務められ、第２回目（2017年）は高知大学医学部薬理学の齊藤源顕教授が、第３回目（2018年）は島根大学医学部薬理学の和田孝一郎教授が実行委員長を務められました。そして第４回目を私が担当させていただくことになりました。「未来を拓く新世代薬理学」をメインテーマに、新世代の研究者による薬理学の近未来を、黒潮の源流の地 沖縄から展望したいと思います。

基調講演では、「新規イオウ代謝経路」を発見された東北大学の赤池孝章教授に、「活性イオウ分子によるレドックスシグナルと代謝制御」についてご講演いただきます。特別講演１では、東京慈恵会医科大学の岡野ジェイムス洋尚教授に、「iPS細胞技術とゲノム研究から見えてきた神経変性疾患の病態」について、特別講演２では、琉球大学内分泌代謝・血液・膠原病内科学の益崎裕章教授に、「肥満脳の分子病態解明と臨床応用：沖縄クライシスからの学びと展望」についてご講演をいただきます。

本学会の翌日、那覇市において日本薬理学会西南部会が開催されます（会長：山本秀幸琉球大学教授）。折角の機会ですので、黒潮・西南ジョイントシンポジウムを企画しました。さらに、YIA（８演題）、一般演題（47演題）、および２つの企業セミナーを予定しています。

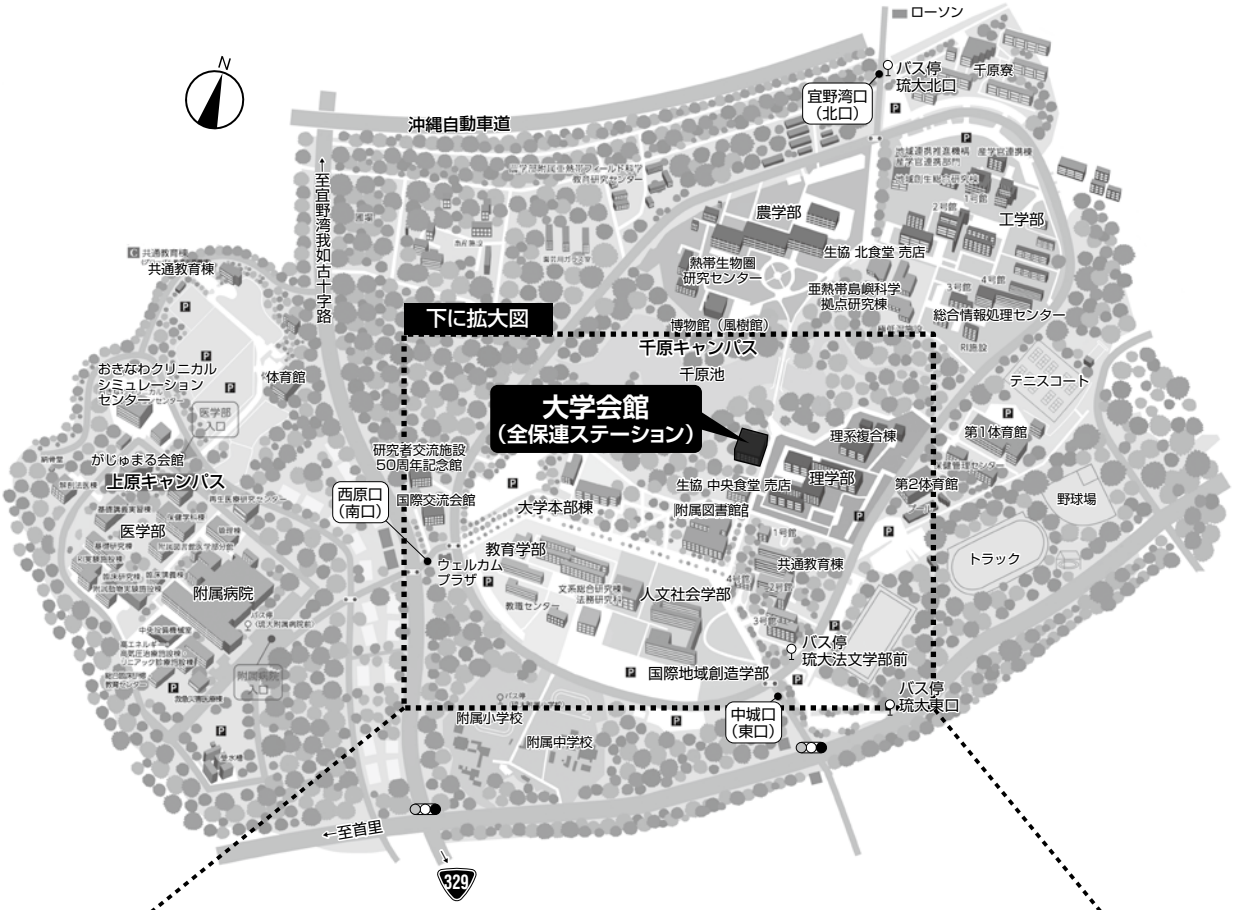
沖縄は日本唯一の亜熱帯気候で、学会を開催する11月の平均気温は22度と東京より10度も高く温暖です。沖縄を訪れる観光客数は年々増え続けており、2017年の沖縄の入域観光客数はハワイを超えました。2018年の観光客数は999万人で、そのうち30％は外国人客です。那覇空港の国内線の利用者数は、羽田空港、新千歳空港、福岡空港に次いで全国第４位で、利用客の増加に対応するため現在第２滑走路が建設中です（来年３月に完成予定です）。那覇空港を始発とするモノレールも今年10月に琉球大学の約２㎞まで延伸されました。観光地の沖縄にネクタイは似合いませんので、学会にはノーネクタイのカジュアルな服装でお越し下さい。多くの皆様のご参加をお待ちしています。

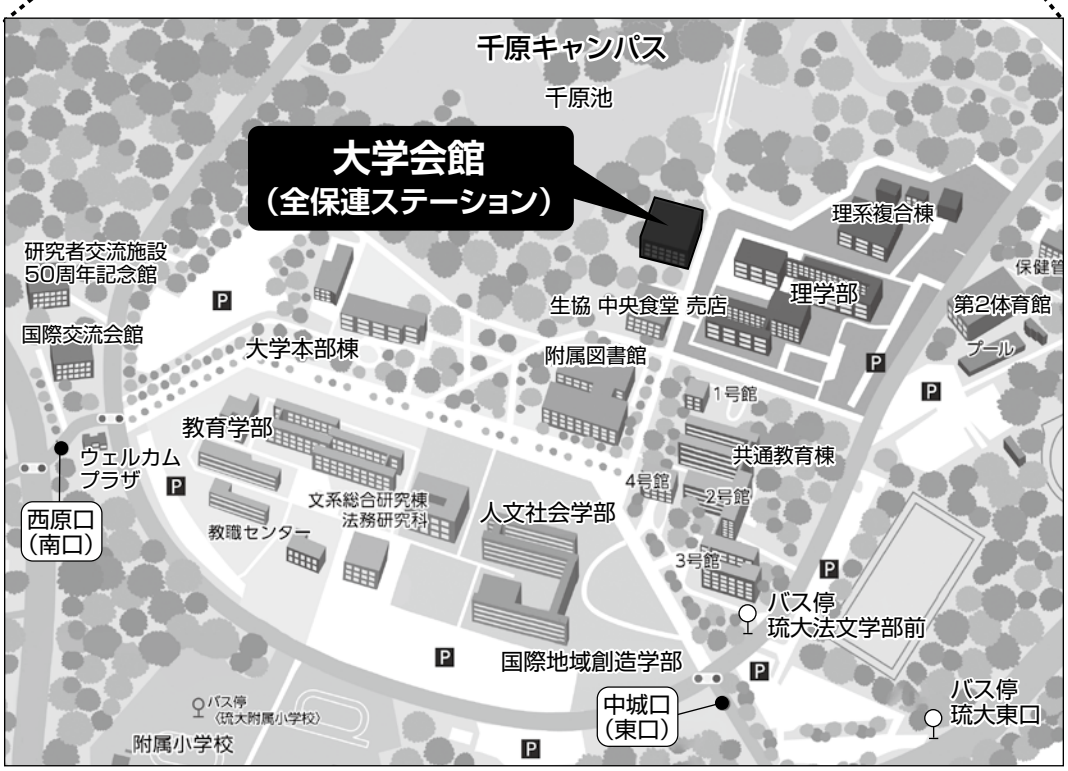
# 会場アクセス




- 今年10月、モノレールが琉球大学の約2kmまで延伸されました。那覇市の交通渋滞は全国ワーストですが、モノレールは定刻に平均8分間隔で運行していて便利です。会場へはモノレールとタクシーの利用をおすすめします。
- タクシーは会場にはアクセスできません。タクシーの運転手に目的地を「琉球大学理学部まで」と告げて下さい。理学部から大学会館まで100mほどです（会場マップ参照）。

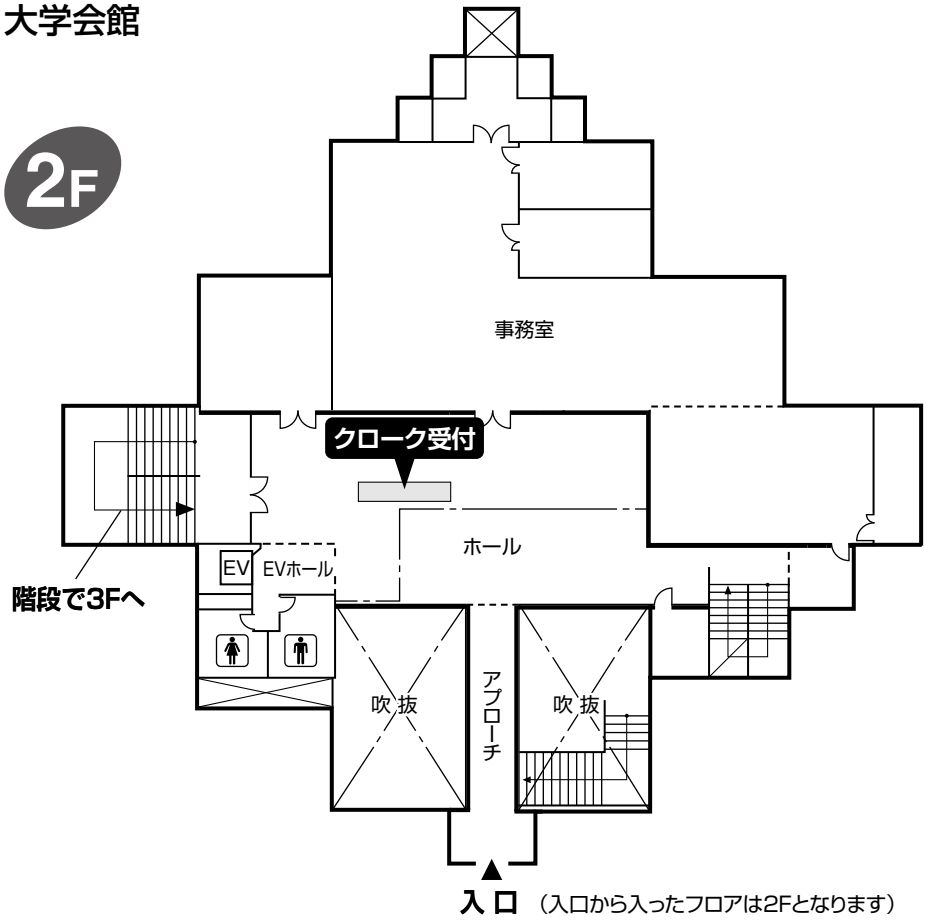
# 会場マップ

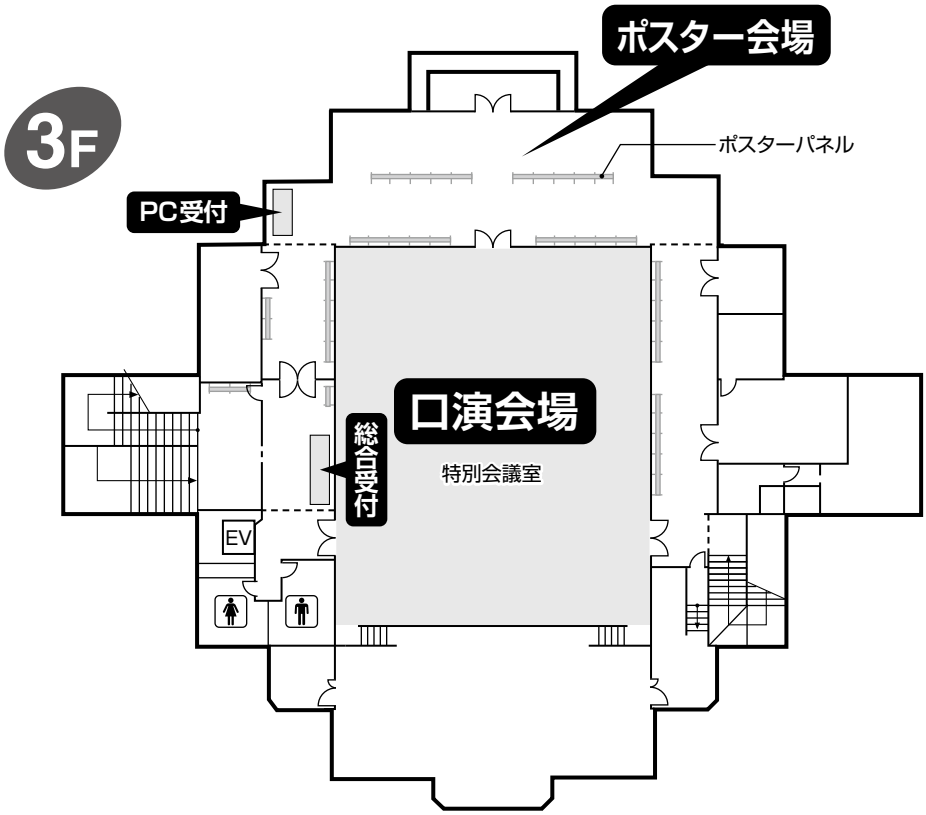

ローソン
バス停
琉大北口
千原寮
宜野湾口
（北口）
沖縄自動車道
至宜野湾我如古十字路
農学部
工学部
生協 北食堂 売店
熱帯生物圏
研究センター
亜熱帯島嶼科学
拠点研究棟
総合情報処理センター
共通教育棟
下に拡大図
博物館（風樹館）
千原キャンパス
千原池
大学会館
（全保連ステーション）
テニスコート
おきなわクリニカル
シミュレーション
センター
体育館
理系複合棟
第1体育館
がじゅまる会館
上原キャンパス
研究者交流施設
50周年記念館
西原口
（南口）
国際交流会館
大学本部棟
生協 中央食堂 売店
理学部
附属図書館
第2体育館
野球場
医学部
教育学部
ウェルカム
プラザ
共通教育棟
トラック
附属病院
人文社会学部
バス停
琉大法文学部前
国際地域創造学部
バス停
琉大東口
附属小学校
中城口
（東口）
附属中学校
至首里
329


千原キャンパス
千原池
大学会館
（全保連ステーション）
理系複合棟
研究者交流施設
50周年記念館
保健管
生協 中央食堂 売店
理学部
第2体育館
国際交流会館
大学本部棟
附属図書館
プール
1号館
教育学部
ウェルカム
プラザ
共通教育棟
4号館
2号館
文系総合研究棟
法務研究科
人文社会学部
西原口
（南口）
教職センター
3号館
バス停
琉大法文学部前
国際地域創造学部
バス停
（琉大附属小学校）
中城口
（東口）
バス停
琉大東口
附属小学校

# 会場案内図

## 大学会館


2F
事務室
クローク受付
ホール
EV
EVホール
階段で3Fへ
吹抜
アプローチ
吹抜
入口
（入口から入ったフロアは2Fとなります）


3F
ポスター会場
ポスターパネル
PC受付
口演会場
総合受付
特別会議室
EV

# 参加者へのご案内

## 【参加者の皆様へ】

- ノーネクタイのカジュアルな服装でお越しください。
- すべての参加者は、はじめに総合受付にお立ち寄りください。
- 事前参加をされた方に、名札、参加証、領収書、プログラム要旨集をお渡しいたします。招待の先生は、名札、参加証、プログラム要旨集をお渡しいたします。
- 名札は会場内では常に見えるようにご着用願います。名札・参加証のない方のご入場は固くお断りいたします。
- 原則として会場内での呼び出しはいたしません。
- 会場内での写真撮影およびビデオ撮影は固くお断りします。
- 琉球大学は敷地内全面禁煙です。
- お車でお越しの方は外来用の駐車場はございません。

**総　合　受　付**：琉球大学大学会館（全保連ステーション）3階

**受付開始時間**：11月15日（金）8時10分～

## 【クローク】

琉球大学大学会館2階でクロークの受付を行いますのでご利用ください。

**受付時間**：11月15日（金）8時10分～18時30分

## 【昼食のご提供】

ランチョンセミナーにおいて昼食をご用意いたします。

## 【懇親会にご参加の皆様へ】

- 会場の隣の生協1階の中央食堂で18時30分から20時まで懇親会を行います。
- 当日参加も可能です。当日参加を希望される方は総合受付で懇親会費をお支払いください。

## 【送迎バス】

懇親会の後、ゆいレールてだこ浦添駅まで無料の送迎バスを手配しますのでご利用ください。

## 【理事会のご案内】

理事会は11月15日（金）8時30分から共通教育棟1号館1階会議室で行います。会議室は建物に入ってすぐ右の部屋です。

## 【学会事務局】

第4回黒潮カンファレンス事務局
事務担当　外間 光
琉球大学大学院医学研究科薬理学講座内
〒903-0215　沖縄県中頭郡西原町上原207番地
TEL：098-895-1135　FAX：098-895-1411
E-mail：pharmaco@w3.u-ryukyu.ac.jp

# 発表者・座長へのご案内

## 【座長の先生へのご案内】

- ご来場されましたら、総合受付にて座長受付をお願いいたします。ご来場の確認をさせていただきます。総合受付は琉球大学大学会館（全保連ステーション）3階です。
- 座長の先生は、担当セッション開始10分前までに次座長席へお越しください。

## 【基調講演・特別講演・シンポジウム・共催セミナー・YIA で口演発表される先生方へのご案内】

- PC による PowerPoint での口演発表をお願いいたします。音声データは使用できません。
- 発表の30分前までに PC 受付で受付をお願いいたします。PC 受付は琉球大学大学会館3階です。
- 会場では Windows 10の PC と PowerPoint 2016を準備いたします。PowerPoint ファイルをお持ちいただく場合は、本 PC による発表に限ります。USB メモリでご持参ください。CD-R など、他のメディアは対応できません。
- 会場のプロジェクターは D-sub15ピンおよび HDMI に対応しています。ご自身の PC または Macintosh の PC を使用される場合は、接続できるかご確認をお願いいたします。
- 文字フォントは PowerPoint に設定されている標準的なフォントをご使用ください。
- 動画ファイルを使用される方は、ご自身の PC をお持ち込みください。

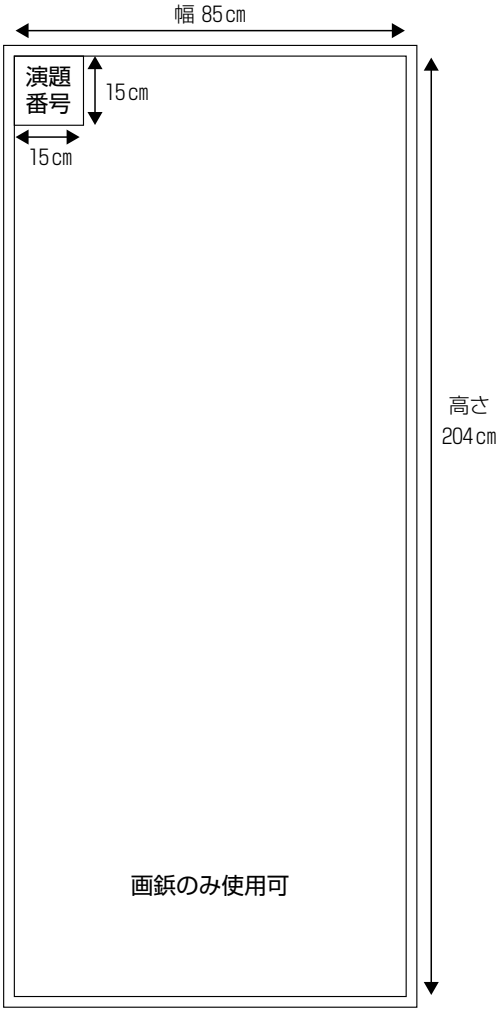
## 【発表時間】

- 基調講演：60分（紹介3分、講演50分、質疑7分）
- 特別講演：40分（紹介3分、講演30分、質疑7分）
- シンポジウム：23分（講演18分、質疑5分）
- 共催セミナー：共催企業に一任
- YIA：11分（発表8分、質疑3分）

## 【ポスター発表の先生方へのご案内】

- ポスター貼付時間：11月15日（金）　8：30～ 9：00
- ポスター発表時間：11月15日（金）17：20～18：20
- ポスター撤去時間：11月15日（金）18：20～19：00
- ポスター会場は琉球大学大学会館3階ホールです。
- 自由討論形式の発表です。プレゼンテーションはございません。
- 発表者用のリボンを準備いたします。
- ポスター貼付用の画鋲は事務局で準備いたします。テープは使用できません。

- ポスターパネルのサイズは幅90㎝×高さ210㎝で、四方に2㎝ほどのアルミの縁がありますので、ポスターが貼れるサイズは幅85㎝×高さ204㎝です（右図参照）。本スペース内に収まるようにポスターをご準備ください。
- ポスターパネル左上の演題番号は事務局で準備します。
- 撤去時間を過ぎても撤去されていないポスターは事務局で処分いたします。




## 【若手研究者奨励賞（YIA）応募者へのご案内】

- YIA セッションは口演発表で、発表時間は11分（発表8分、質疑3分）です。
- 選考の結果は、懇親会における YIA 授賞式で発表します。YIA に応募された先生は、YIA 授賞式に必ずご出席ください。

## 【YIA 審査員の先生方へのご案内】

- YIA 審査員の先生方は、セッション開始5分前（9時00分）までに会場にお越しください。
- 採点用紙は係員が会場にてお配りし、セッション終了後に回収いたします。

# 2019年11月15日㊎　琉球大学

## 口演会場
大学会館 3階 特別会議室

- 9:00～9:05　開会挨拶
- 9:05～10:35　YIA セッション
  座長：和田 孝一郎
  西村 有平
- 10:40～11:50　黒潮・西南ジョイントシンポジウム 1
  シンポジスト：茂木 正樹
  西　昭徳
  有賀　純
  座長：山本 秀幸
- 11:50～12:30　特別講演 1
  演者：岡野 ジェイムス洋尚
  座長：齊藤 源顕
- 12:40～13:30　ランチョンセミナー（共催：マルホ株式会社）
  演者：宮城 拓也
  座長：赤池 孝章
- 13:40～14:50　黒潮・西南ジョイントシンポジウム 2
  シンポジスト：岩本 隆宏
  武谷　立
  安西 尚彦
  座長：西山　成
- 14:50～15:30　特別講演 2
  演者：益崎 裕章
  座長：今村 武史
- 15:30～16:30　基調講演
  演者：赤池 孝章
  座長：筒井 正人
- 16:30～17:20　アフタヌーンセミナー（共催：株式会社ツムラ）
  演者：礒濱 洋一郎
  座長：岡野 ジェイムス洋尚

## ポスター会場
大学会館 3階ホール

- 8:30～9:00　ポスター貼付
- 9:00～17:20　ポスター閲覧
- 17:20～18:20　ポスター発表
- 18:20～19:00　ポスター撤去

## その他

- 8:30～8:50　理事会
  会場：共通教育棟1号館 1階 会議室
- 18:30～20:00　懇親会
  会場：生協1階　中央食堂
  ※会場の隣の建物

# プログラム

**11月15日（金）**
琉球大学大学会館（全保連ステーション）3階 特別会議室

8：30～9：00　**理 事 会**　（共通教育棟1号館 1階 会議室）

---

9：00～9：05　**開会挨拶**

実行委員長：筒井 正人（琉球大学大学院医学研究科 薬理学）

9：05～10：35　**YIA セッション**

座長：和田 孝一郎（島根大学 医学部 薬理学）
西村 有平（三重大学大学院医学系研究科 統合薬理学）

**YIA-1**　Hedgehog pathway の阻害は椎間板変性と椎体骨棘形成を抑制する

福田 北斗　産業医科大学 医学部 整形外科学

**YIA-2**　ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）受容体刺激による Pyk2の活性化とその生理的意義

澳津 志帆　琉球大学大学院 医学研究科 生化学講座

**YIA-3**　暗期に増加する EAAC1は脳虚血後のキレータブル亜鉛を介した海馬障害を軽減させる

新武 享朗　高知大学 医学部 薬理学講座、日本学術振興会特別研究員

**YIA-4**　大動脈弁異所性石灰化の分子メカニズムの解明

坂上 倫久　愛媛大学大学院 医学系研究科 心臓血管・呼吸器外科、
愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 細胞増殖・腫瘍制御部門

**YIA-5**　低酸素血症を伴う特発性肺線維症患者への nintedanib 投与は肺高血圧症を悪化させる

田原 正浩　産業医科大学 医学部 呼吸器内科学

**YIA-6**　Age-related changes of responses to hydrogen sulfide in the bladder of spontaneously hypertensive rats

Zou Suo　高知大学 医学部 薬理学講座

**YIA-7**　Identification of Emetine as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Hypertension in Rats-Novel Effects of an Old Drug-

Siddique Mohammad Abdul　Department of Cardiovascular Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

**YIA-8** Metabolically and immunologically beneficial impact of extra virgin olive and flaxseed oils on composition of gut microbiota in mice

Millman Jasmine　琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科講座（第二内科）

10：40～11：50　**黒潮・西南ジョイントシンポジウム１**

座長：山本 秀幸（琉球大学大学院医学研究科 生化学）

**S1-1** 生活習慣病とフレイル

茂木 正樹　愛媛大学大学院医学系研究科 薬理学

**S1-2** 抗うつ薬（SSRI）作用発現における海馬歯状回ドパミン D1 受容体の役割

西 昭徳　久留米大学 医学部 薬理学講座

**S1-3** 「シナプス接着分子」とモノアミン制御の接点

有賀 純　長崎大学医歯薬学総合研究科 医科薬理学

11：50～12：30　**特別講演１**

座長：齊藤 源顕（高知大学 医学部 薬理学）

## iPS 細胞技術とゲノム研究から見えてきた神経変性疾患の病態

岡野 ジェイムス洋尚　東京慈恵会医科大学 再生医学研究部

12：40～13：30　**ランチョンセミナー**

座長：赤池 孝章（東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野）

## 抗 IL-17 抗体の real world

宮城 拓也　琉球大学大学院医学研究科 皮膚科学

共催：マルホ株式会社

13：40～14：50　**黒潮・西南ジョイントシンポジウム２**

座長：西山 成（香川大学 医学部 薬理学）

**S2-1** $Na^{+}/Ca^{2+}$交換輸送体の構造と機能：
NCX1 変異解析と CaCA 結晶構造の整合性

岩本 隆宏　福岡大学 医学部 薬理学

**S2-2**　アクチン細胞骨格による心臓機能の調節機構

武谷 立　　宮崎大学 医学部 薬理学分野

**S2-3**　トランスポーターを分子標的とした創薬

安西 尚彦　　千葉大学大学院医学研究院 薬理学

14：50～15：30　**特別講演2**

座長：今村 武史（高知大学 医学部 薬理学）

## 肥満脳の分子病態解明と臨床応用：沖縄クライシスからの学びと展望

益崎 裕章　琉球大学 大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座（第二内科）

15：30～16：30　**基調講演**

座長：筒井 正人（琉球大学大学院医学研究科 薬理学）

## 活性イオウ分子によるレドックスシグナルと代謝制御

赤池 孝章　東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野

16：30～17：20　**アフタヌーンセミナー**

座長：岡野 ジェイムス洋尚（東京慈恵会医科大学 再生医学研究部）

## 薬理学からみた漢方薬の作用 ～アクアポリンを中心に～

磯濱 洋一郎　東京理科大学薬学部薬学科 応用薬理学

共催：株式会社ツムラ

17：20～18：20　**ポスター発表**　（大学会館 3階 ホール）

18：30～20：00　**懇 親 会**　（生協1階 中央食堂）

# 一般演題 プログラム

**11月15日（金）**
琉球大学大学会館（全保連ステーション）3階 ホール

17：20～18：20　**ポスター発表**

**P-01**　Myosin-dependent actin stabilization as revealed by single-molecule speckle（SiMS）analysis of actin turnover

山城 佐和子　京都大学 医学研究科 神経・細胞薬理学教室、
京都大学大学院生命科学研究科 分子動態生理学分野

**P-02**　ヒト iPS 細胞技術を用いた新たな in vitro 神経毒性評価法の開発

諫田 泰成　国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

**P-03**　A new approach for atopic dermatitis treatment by fucoxanthin

Tomoko Aoyama　Molecular Toxicology Lab., Ritsumeikan University

**P-04**　SCN9A 遺伝子異常による肢端紅痛症患者に対するラコサミドの有効性と安全性の評価

山口 さやか　琉球大学 大学院医学研究科 皮膚科学講座

**P-05**　ゼブラフィッシュを用いた新規神経発達関連遺伝子 c3orf70 の機能解析

白水 崇　三重大学 大学院医学系研究科 統合薬理学

**P-06**　Changes of urethral smooth muscle and external urethral sphincter function associated with age in rats

大城 琢磨　琉球大学医学部 システム生理学講座

**P-07**　自然発症高血圧ラットにおける膀胱機能障害に対する $\alpha_1$ 受容体遮断薬シロドシンおよび PDE5 阻害薬タダラフィルの治療効果

清水 翔吾　高知大学 医学部 薬理学講座

**P-08**　前立腺肥大・前立腺委縮における加齢及び高血圧の影響

鎌田 栞穂　高知大学 医学部 薬理学講座、高知大学医学部 先端医療学コース

**P-09**　前立腺過形成に対する PDE5 阻害薬タダラフィルの治療効果

片岡 環　高知大学 医学部 薬理学講座

**P-10**　ラット排尿反射抑制に関与する脳内ニコチン受容体サブタイプの薬理学的解析

清水 陽平　高知大学 医学部 薬理学講座

**P-11** 脳内一酸化窒素による頻尿誘発の脳内機序の薬理学的解析

尾野 秀彬　高知大学 医学部 薬理学講座、高知大学 医学部 先端医療学推進センター

**P-12** 亜鉛誘導性増悪化 M1 ミクログリアによるアストロサイトの食作用への作用の解析

東 洋一郎　高知大学 医学部 薬理学講座

**P-13** 個性別ラットの左右海馬におけるグルタミン酸受容体サブタイの発現量差の検討

及川 弘崇　鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 薬理・動態学研究分野

**P-14** エゾウコギエキス含有成分投与における高架上での行動並びに BDNF 及びグルタミン酸受容体発現への影響

宮崎 翔平　鈴鹿医療科学大学大学院 薬学研究科 分子予防薬理学研究室

**P-15** Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Neurons in the Ventromedial Hypothalamus Increased Appetite Through the Change of Neuropeptides Expression in the Arcuate Nucleus of Mice

Thanh Trungl Nguyen　Department of Pharmacology, Graduate School of Medical and Dental Science, Kagoshima University,
Department of Pharmacology, Toxicology, Internal Medicine and Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Vietnam National University

**P-16** 痛みによる負情動行動形成における PACAP 情報伝達系の関与

橋口 浩平　鹿児島大学 医歯学総合研究科 生体情報薬理学分野、
鹿児島大学 医歯学総合研究科 歯科麻酔全身管理学分野

**P-17** 視床下部由来の培養神経細胞におけるチロシンキナーゼ Pyk2 の活性化機構

間 妃向子　琉球大学大学院医学研究科 生化学講座

**P-18** 軟らかい細胞外環境はマクロファージの炎症性分化を抑制する

岡本 貴行　島根大学 医学部 薬理学講座

**P-19** ラットの胎生期および新生児期におけるマスト細胞の発生

田中 徹也　島根大学 医学部 薬理学講座

**P-20** ヒト有害事象自発報告データベースを利用した治療薬のクラスタリング

西村 有平　三重大学 医学部 統合薬理学

**P-21** 肥満ラットにおける心房細動の検討

澤野 達哉　鳥取大学 医学部 病態解析学講座 薬理学・薬物療法学分野

**P-22** 新規病因蛋白セレノプロテインＰによる肺高血圧症促進機構の解明と治療ターゲット、バイオマーカーとしての応用

菊地 順裕　東北大学 大学院医学系研究科 循環器内科学

**P-23** 低酸素誘発肺高血圧発症における血管平滑筋 NCX1 を介した $Ca^{2+}$ シグナル異常の関与

田頭 秀章　福岡大学 医学部 薬理学

**P-24** 組織特異的 TRPM7DN 変異体高発現マウスの特性解析

喜多 知　福岡大学 医学部 薬理学

**P-25** The Association of Peroxiredoxin 4 with the Initiation and Progression of Hepatocellular Carcinoma

郭 シン　金沢医科大学 医学部 臨床病理学講座

**P-26** がん治療における choline transporter-like protein 1（CTL1）を標的とした新規化合物の抗腫瘍効果

平井 花歩　東京医科大学 医学総合研究所

**P-27** 抗がん剤誘発神経障害性疼痛に関連する細胞内シグナル分子の解析

根本 隆行　福岡大学 医学部 薬理学、宮崎大学 医学部 機能制御学講座 薬理学分野

**P-28** 新規の抗 HIV 治療薬の尿細管細胞への障害性と有機酸トランスポーターとの相互作用

安西 尚彦　千葉大学大学院 医学研究院 薬理学

**P-29** 抗血小板薬・シロスタゾールがモノアミントランスポーター機能に及ぼす影響

伊藤 英明　産業医科大学 リハビリテーション医学講座、産業医科大学 薬理学講座

**P-30** 腎性貧血モデルマウスにおける PHD 阻害薬 modulistat の効果

中野 大介　香川大学 医学部 薬理学講座

**P-31** 島根県の住民における口腔内高病原性の保菌状況（年齢および性別での差異についての検討）

臼田 春樹　島根大学 医学部 薬理学講座

**P-32** 1980 年に沖縄県の都市河川より分離された *Vibrio cholerae* O1 の病原性に関する検討

山城 哲　琉球大学大学院医学研究科 細菌学講座

**P-33** Environmental DNA（eDNA）analysis of pathogenic *Leptospira* and associated organisms in leptospirosis-endemic Okinawa areas

佐藤 行人　琉球大学 戦略的研究プロジェクトセンター

**P-34** シリマリン類の MIN6 細胞におけるインスリン分泌に及ぼす影響

豊平 由美子　産業医科大学 医学部 薬理学講座

**P-35** 銅キレート剤のクプリゾンは高脂肪食による肥満に伴う体脂肪増加と耐糖能異常を抑制する

市原 克則　鳥取大学 医学部 薬理学・薬物療法学分野

**P-36** フルボ酸は、弱い脱共役剤である

藤田 隆司　立命館大学 薬学部 分子薬効毒性学研究室

**P-37** イヤリング型非侵襲血糖値センサーを目指した皮膚表層近傍における微弱な反射光検出が可能な高感度中赤外分光法

川嶋 なつみ　香川大学 創造工学部

**P-38** ファインセラミックスを応用した赤外帯域レーザー励起材料の製造基礎－技術に関する研究

深野 陽介　琉球大学 工学部 電気電子工学科

**P-39** 改良型－ビーズミル粉砕機を用いた複合－石英材料の粉砕処理に関する研究

桃原 司　琉球大学 工学部 電気電子工学科

**P-40** カーボンナノチューブ（CNT）型－可飽和吸収体の作製法と光パルス圧縮効果に関する研究

宮城 加津也　琉球大学 工学部 工学科 電子情報通信コース

**P-41** Determination of higenamine in 5 Kampo medicine preparations using liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Tayag Jose Carlos 琉球大学大学院医学研科 薬物治療学講座

**P-42** ドリル開孔術後のマウス大腿骨皮質骨の骨修復はメスがオスよりも良好である

福田 北斗　産業医科大学 医学部 整形外科学

**P-43** 糞便移植は2/3腎摘一酸化窒素合成酵素系欠損マウスの心筋梗塞の発症を抑制する

平良 雄司　琉球大学 大学院 医学研究科 薬理学

**P-44**　沖縄特産 " 琉れん草 " の抗肥満活性評価

森本 晴子　　沖縄工業高等専門学校 生物資源工学科

**P-45**　DNA メチル化解析結果を用いた計算機科学による膵癌予後予測

横山 勢也　　鹿児島大学大学院 医歯学域医学系 腫瘍学講座 病理学分野

**P-46**　繊毛運動における一酸化窒素の役割の検討

加藤 香織　　産業医科大学 医学部 呼吸器内科学

**P-47**　一酸化窒素合成酵素完全欠損マウスを用いた肺気腫における病態解明

加藤 香織　　産業医科大学 医学部 呼吸器内科学

# 基 調 講 演

11月15日（金） 15：30～16：30

## 活性イオウ分子による
## レドックスシグナルと代謝制御

赤池 孝章

東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野

座長：筒井 正人（琉球大学大学院医学研究科 薬理学）

# 活性イオウ分子による レドックスシグナルと代謝制御

赤池 孝章
東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野

学 歴

1984年 熊本大学医学部 卒業
1991年 熊本大学大学院医学研究科 博士課程 修了
1991年 熊本大学医学部 助手
1992年 同 講師
1993年 トーマスジェファーソン医科大学 客員教授
1994年 熊本大学医学部 助教授
2001年 アラバマ大学バーミングハム校 客員教授
2003年～2006 年文部科学省研究振興局学術調査官
2005年 熊本大学大学院生命科学研究部 教授
2007年～2012年 新学術領域研究『活性酸素シグナル』領域代表
2011年 熊本大学医学科長・副医学部長
2013年より現職
2019年 東北大学大学院医学系研究科 副研究科長（研究担当）

近年、システインパースルフィド（CysSSH）をはじめとする活性イオウ分子種が生体内で大量に合成され、強力な抗酸化活性やレドックスシグナル制御機能を発揮していることが明らかとなった（Ida, T., et al., *PNAS*, 2014）。さらに我々は、タンパク質翻訳酵素の一つであるシステイン tRNA 合成酵素（cysteinyl-tRNA synthetase, CARS）が、新しい CysSSH 生成酵素（cysteine persulfide synthase, CPERS）であることを証明した（Akaike, T., et al., ***Nat.Commun.***, 2017）。すなわち、CARS/CPERS は、翻訳時に、システインから CysSSH を合成し、これを tRNA に取込むことで、タンパク質をポリスルフィド化している（protein polysulfidation）。真核細胞においては、細胞質に存在する CARS1 とミトコンドリアに局在する CARS2 があり、CARS1/CPERS1 がつくる CysSSH は 翻訳時にタンパク質に取り込まれる。また、CARS2/CPERS2 由来のイオウ代謝物は、ミトコンドリアの電子伝達系において、プロトン・電子を授受し膜電位を形成することで、イオウ依存型エネルギー代謝であるイオウ呼吸を司る。一方、CARS2/CPERS2 変異マウスを作成して CysSSH の生理機能を解析したところ、活性イオウ分子種が、その抗炎症作用とともに、T 細胞分化を強く抑制することで顕著な免疫制御機能を発揮していることが分かった。さらに最近、CARS/CPERS から供給されるパースルフィドが、タンパク質チオール基にイオウ分子を補填することで、タンパク質のチオール基を保護したり、タンパク質の可塑性や品質を管理維持することも明らかになった（***Sci.Adv.***, Dóka, E., Ida, T., et al. 2019, in press）。すなわち、活性イオウ分子はタンパク質ポリスルフィド化を介して、レドックスシグナル、酸化ストレスや ER ストレス応答を制御している。本講演では、これまでの生命科学研究において全く未知の領域であった新規イオウ代謝経路の発見と、それを契機に急速に進展しつつあるイオウ生物学の世界の大きな潮流について紹介する。

# 特別講演1

11月15日（金） 11：50～12：30

## iPS細胞技術とゲノム研究から見えてきた神経変性疾患の病態

岡野 ジェイムス洋尚
東京慈恵会医科大学 再生医学研究部

座長：齊藤 源顕（高知大学 医学部 薬理学）

# iPS細胞技術とゲノム研究から見えてきた神経変性疾患の病態

岡野 ジェイムス洋尚
東京慈恵会医科大学 再生医学研究部

学 歴

昭和63年3月
東京慈恵会医科大学医学部医学科
卒業

平成2年6月
米国ロックフェラー大学神経科学・
行動研究室 留学

平成5年9月
米国ロックフェラー大学分子神経腫
瘍学研究室
ポストドクトラルフェロー

平成6年1月
東京慈恵会医科大学大学院
博士課程 終了
博士（医学）

平成11年1月
米国ロックフェラー大学分子神経腫
瘍学研究室
リサーチアソシエイト

平成13年1月
慶應義塾大学医学部生理学教室
専任講師

平成17年1月
慶應義塾大学医学部生理学教室
助教授

平成19年4月
慶應義塾大学医学部生理学教室
准教授

平成23年9月
東京慈恵会医科大学再生医学研究部
教授

慶應義塾大学医学部 訪問教授
星薬科大学大学院 客員教授
理化学研究所 脳科学総合研究センター
客員研究員
実験動物中央研究所 兼任研究員
日本神経化学会 評議員

ゲノム研究の発展によりアルツハイマー病やパーキンソン病、ALSといった神経変性疾患の原因もしくは発症リスクとなる遺伝子の探索がすすんでいる。それに伴い、神経疾患発症に深く関わると考えられる一連の機能分子群が同定され、その病態生理の一端が明らかになってきた。一方、難治性疾患の治療を実現するための切り札としてiPS細胞に注目が集まっている。iPS細胞技術は病気の原因を突き止めるための病態研究や患者個人に合わせたオーダーメイド細胞医療など幅広い応用の可能性を秘めている。iPS細胞から臓器の細胞を作り出す分化誘導法、特定の細胞の分離・濃縮法の開発が進んでおり、これらの技術を集約することにより、患者由来の臓器細胞を作って解析することが可能になった。特に、患部の細胞を生きた状態で採取することが難しい中枢神経疾患においてはiPS細胞技術が極めて大きなインパクトもっており、患者iPS細胞由来神経系細胞を使った研究が世界中で行われている。

我々は、3世代にわたってパーキンソン病を発症した患者の家系について研究を行ってきた。ゲノム解析により原因遺伝子はPARK17（VPS35）であることがわかった。VPS35はエンドソームの細胞内輸送に関わるレトロマーの構成因子で、アルツハイマー病患者の脳においても発現の低下が報告されている。患者の末梢血単核球からiPS細胞を作成し、分化誘導したドパミンニューロンを調べたところ、患者ニューロンにおいて多くの細胞死が観察された。また、エンドソームの移動速度が疾患群で顕著に低下しており、その細胞内分布も健常群と異なっていることが明らかになった。

近年、強い遺伝的背景をもつ疾患のiPS細胞を利用した病態研究が急速に発展しており、希少疾患の研究にも大きく貢献している。iPS細胞の作成、維持、分化誘導法が比較的簡単になり、品質の安定した細胞を再現性良く作れるようになってきたため、今後はヒト細胞システムを利用した疾患モデルを基盤とする創薬研究が加速するだろう。

# 特別講演2

11月15日（金） 14：50～15：30

## 肥満脳の分子病態解明と臨床応用：沖縄クライシスからの学びと展望

益崎 裕章
琉球大学 大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座（第二内科）

座長：今村 武史（高知大学 医学部 薬理学）

# 肥満脳の分子病態解明と臨床応用：沖縄クライシスからの学びと展望

益崎 裕章
琉球大学 大学院医学研究科
内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座（第二内科）

学 歴

1989年
京都大学 医学部 卒業

1996年
京都大学 大学院医学研究科 博士課程 修了（第二内科、分子医学専攻）、医学博士授与（Co：井村 裕夫 教授、中尾 一和 教授）

2000年
ハーバード大学医学部 招聘博士研究員・客員助教授（Co：医学部長 Jeffrey S. Flier 教授）

2008年
京都大学 内分泌代謝内科 講師

2009年
琉球大学 大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科学講座（第二内科）教授

2014年
琉球大学 医学部附属病院 副病院長 併任

2015年
琉球大学 医学部 副医学部長 併任

2016年
寄附講座『糖尿病とがん 病態解析学講座』教授 併任

日本内分泌学会 研究奨励賞（平成13年）
日本肥満学会 肥満学会賞（平成14年）
日本心血管内分泌学会 高峰譲吉 研究奨励賞（平成16年）
などを受賞。

身体に悪い、と理屈では解っていても食べ過ぎや運動不足から脱却できないのは なぜなのか？ 動物性脂肪の依存的摂取は肥満症の発症・増悪要因として重要であるが、臨床医学の現場では未だ、その解決のための有効な手立てを欠いている。このような背景を踏まえ、私達は2型糖尿病や肥満症の発症基盤に存在する“脳機能の異常”に注目し、脳科学と分子栄養学を用いて行動変容の分子メカニズムの解明に取り組んでいる。動物性脂肪の過剰摂取は脳をハッキングし、自らが必要とするエネルギー量や栄養成分を判断できない脳に変えてしまう。私達は動物性脂肪の習慣的摂取が惹起する脳内報酬系のドパミン受容体（D2R）シグナル低下に注目し、動物性脂肪の過剰に伴う D2R 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化亢進に伴うゲノム修飾の関与を検討し、一連のマウス実験から、動物性脂肪の過剰摂取は視床下部ではマイクログリア炎症や小胞体ストレスを引き起こし（Diabetes 61：3084-3093, 2012）、脳内報酬系ではエピゲノムの変調を来し（Diabetologia 60：1502-1511, 2017）、脳内の部位ごとに異なる機構が働くことによって動物性脂肪に対する強固な依存性が形成されていくことを世界で初めて明らかにした。一方、玄米（米糠）に特異的かつ高濃度に含有される機能成分であるγ- オリザノールは脳内報酬系の神経核に作用して DNA メチル基転移酵素活性を抑制するエピゲノム・コントローラーとして機能し、“満足できない脳”を“足るを知る脳”に変える新規の分子メカニズムを明らかにした。経口摂取されたγ- オリザノールは視床下部においては炎症や小胞体ストレスを緩和し、脳内報酬系においてはエピゲノム変調を正常化させるという部位特異的、作用特異的なユニークな作用機構が明らかとなり、玄米機能成分を活用して脳機能の改善や肥満症の改善を目指す機能性食品や医薬開発を進めている（Drug Delivery 24：558-568, 2017；Endocrinology 156：1242-1250, 2015；British J Pharmacol 172：4519-4534, 2015；特許 第6098973号（2017）、 第6143215号（2017）、 第6281919号（2018）、第6182540号（2017））。

# 黒潮・西南ジョイント
# シンポジウム1

11月15日（金） 10：40～11：50

**S1-1**　生活習慣病とフレイル

茂木　正樹（愛媛大学大学院医学系研究科　薬理学）

**S1-2**　抗うつ薬（SSRI）作用発現における
海馬歯状回ドパミンD1受容体の役割

西　昭徳（久留米大学医学部　薬理学講座）

**S1-3**　「シナプス接着分子」とモノアミン制御の接点

有賀　純（長崎大学医歯薬学総合研究科　医科薬理学）

座長：山本　秀幸（琉球大学大学院医学研究科　生化学）

# S1-1 生活習慣病とフレイル

茂木 正樹
愛媛大学大学院医学系研究科 薬理学

令和に時代を迎え、本邦は人生100年時代に突入した。しかし、健康寿命は未だ70歳台前半であり、介護の必要としない健康な高齢者の増多が希求されている。介護の要因の3割は脳卒中や糖尿病などの生活習慣病関連、5割は認知症や身体能力低下などのフレイルに起因する。生活習慣病対策とフレイル予防は8割の介護要因への対応策となり、健康寿命延伸に重要である。

一方で、生活習慣病がフレイルに影響を及ぼすこともわかってきており、認知症においては、血管障害により血管・神経・アストロサイトの三つ巴であるneurovascular unitの機能障害が起こり神経障害につながるとの概念から、生活習慣病が血管障害を介して認知症発症に影響を与えていると考えられる。実際、中年期の高血圧が血管性認知症だけでなく、アルツハイマー病を含めた認知症全般の将来的な発症の危険因子であることや、糖尿病に起因した認知機能の低下が臨床的に知られている。

我々は高血圧に深く関与するレニン・アンジオテンシン系（RAS）と認知症との関係についてこれまで動物実験から検討してきた。また、糖尿病マウスにおいて、認知機能障害が認められ、その原因に微小血管（血液脳関門）の破綻が関連し、RASの抑制により糖尿病による認知機能障害にも改善効果があることを報告してきた。臨床的にもRAS阻害薬を服薬している群の方が服薬していない群よりも、認知機能の発症・進展が少ないことが報告されているが、大規模な予防的臨床研究の難しさから、新たな認知症治療には至っていない。

さらに、身体的フレイルであるサルコペニアの要因に糖尿病が関与することも注目されている。骨格筋内に脂肪が沈着することによる筋肉の質の低下によりサルコペニア肥満が誘導されるが、我々は糖尿病マウスを用いてそのメカニズムの一端を検討している。

本シンポジウムでは、フレイルへの高血圧・糖尿病の関与とその考えられるメカニズム、そして生活習慣病に関連するフレイルを防ぐためにどのような対応していくべきかについて考察したい。

# S1-2 抗うつ薬（SSRI）作用発現における海馬歯状回ドパミンD1受容体の役割

西 昭徳
久留米大学 医学部 薬理学講座

海馬歯状回は海馬への入力に対するゲーティング機構を形成し、神経回路の活動性を調節している。歯状回は神経新生がおこる脳部位であるが、一方で、成熟した顆粒細胞の遺伝子発現は精神神経疾患の病態で大きく変動している。特に、未成熟な遺伝子発現状態は精神神経疾患の中間表現型として注目されている[1)]。遺伝子発現状態は顆粒細胞の興奮性と密接に関わり、抗うつ薬などの薬物療法によっても顆粒細胞の遺伝子発現は変化する。さらに、顆粒細胞の興奮と遺伝子発現の時空間的パターンが記憶に関わることも知られている。我々は、抗うつ薬慢性投与により海馬歯状回で発現が増加するドパミンD1受容体[2,3)]に着目し、ドパミンD1受容体がうつ病治療の標的となるかを検討したのでその成果を紹介する[4)]。

選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）であるfluoxetineをマウスに慢性投与すると、海馬歯状回の成熟顆粒細胞においてドパミンD1受容体の発現が著明に増加した。D1受容体発現の増加に伴い、D1受容体/PKAシグナルは亢進していた。海馬歯状回におけるD1受容体/PKAシグナルの亢進は、顆粒細胞興奮性の亢進、新規環境ストレスに対するセロトニン応答の抑制、神経新生の促進、拘束ストレスによるうつ様行動の改善に関与していた。さらに、強い拘束ストレス条件下ではfluoxetineの効果は不十分であり、ドパミンD1受容体の発現増加やうつ様行動の改善は見られなかった。しかし、ドパミンD1受容体アゴニストの併用投与によりfluoxetineの効果が増強され、ドパミン受容体発現増加とうつ様行動の改善が認められた。この様に、海馬歯状回のドパミンD1受容体を標的とした薬物療法は、SSRIをはじめとする抗うつ薬の治療効果を改善する有効な方法であると考えられた。

【参考文献】

1）Yamasaki, N., *et al.* Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. *Mol Brain* 1, 6（2008）.

2）Kobayashi K, Ikeda Y, Sakai A, Yamasaki N, Haneda E, Miyakawa T *et al.* Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; **107**（18）: 8434-8439.

3）Kobayashi K, Haneda E, Higuchi M, Suhara T, Suzuki H. Chronic fluoxetine selectively upregulates dopamine D（1）-like receptors in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 2012; **37**（6）: 1500-1508.

4）Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Kawahara Y, Oh YS, Jang JH, Shin CH, Ohnishi YN, Hanada Y, Miyakawa T, Kim Y, Greengard P, Nishi A. Mol Psychiatry. 2018 Dec 10. doi: 10.1038/s41380-018-0316-x.［Epub ahead of print］

# S1-3 「シナプス接着分子」とモノアミン制御の接点

有賀 純
長崎大学医歯薬学総合研究科 医科薬理学

脳神経系に発現するロイシンリッチリピート（LRR）を含む膜貫通タンパク質（以下、LRR膜タンパク質）は中枢神経系のシナプス形成および機能調節において、重要な役割を果たし、シナプスオーガナイザーとも呼ばれる。最近のヒトの遺伝学的解析、変異マウスの解析から、LRR膜タンパク質（遺伝子）の異常が統合失調症、双極性障害、ADHD、強迫性障害、不安障害、自閉スペクトラム症、学習障害などの神経疾患に密接に関係することが明らかになってきた。これらの疾患のうち、統合失調症、双極性障害、ADHD、強迫性障害、不安障害治療薬の多くはモノアミン作動性神経系（モノアミン系）を標的としていることから、LRR膜タンパク質の機能変化とモノアミン系との関係に注目した。実際にLRR膜タンパク質欠損動物について、脳のモノアミン含有量の解析を行ったところ、4系統中4系統全てにおいて、異常があることを見出した。また、モノアミン標的薬の行動への影響についても、解析した3系統中3系統全て変化していた。これらの結果から、「LRR膜タンパク質はモノアミン系の成り立ちに重要な役割を持つのではないか」という作業仮説が得られた。

これまでに、我々はSlitrkファミリータンパク質が代謝型受容体の1つである受容体型チロシンホスファターゼδ（Ptprd）を制御すること、Elfn1がmGluR7をシナプス前部に集積させること、Lrfn2がグルタミン酸受容体の量を調節することなどを報告した。このように「シナプス性伝達」におけるLRR膜タンパク質の役割については、理解が進みつつあるが、モノアミン系を含む「拡散性伝達」におけるLRR膜タンパク質の役割については未だ不明の点が多い。

今回のトークではLRR膜タンパク質による拡散性伝達の制御機構について、これまでの研究の流れを振り返り、現在進行中のプロジェクトについても時間の許す限り紹介したい。

# 黒潮・西南ジョイント
# シンポジウム2

11月15日（金） 13：40～14：50

**S2-1** $Na^{+}/Ca^{2+}$交換輸送体の構造と機能：
NCX1変異解析とCaCA結晶構造の整合性

岩本 隆宏（福岡大学 医学部 薬理学）

**S2-2** アクチン細胞骨格による心臓機能の調節機構

武谷 立（宮崎大学 医学部 薬理学分野）

**S2-3** トランスポーターを分子標的とした創薬

安西 尚彦（千葉大学大学院医学研究院 薬理学）

座長：西山 成（香川大学 医学部 薬理学）

# S2-1 $Na^+/Ca^{2+}$交換輸送体の構造と機能：NCX1変異解析とCaCA結晶構造の整合性

岩本 隆宏
福岡大学 医学部 薬理学

筋収縮、神経伝達、ホルモン分泌などの様々な生体機能は、$Ca^{2+}$チャネルや$Ca^{2+}$トランスポーターが形成する細胞内$Ca^{2+}$シグナルにより調節されている。その一端を担う$Na^+/Ca^{2+}$交換輸送体（NCX）は、細胞膜を介して3個の$Na^+$と1個の$Ca^{2+}$を交換輸送する膜トランスポーターである。NCXは通常、細胞膜を介する$Na^+$濃度勾配に従って、細胞内$Ca^{2+}$を細胞外へ汲み出す役割を担っているが（forward mode）、細胞内$Na^+$が蓄積する特殊な状況下では、細胞外$Ca^{2+}$を逆に流入させる（reverse mode）。長年、NCXの構造と機能について研究しているが、最近、原核生物のNCXホモログCaCA（$Ca^{2+}$／陽イオン交換輸送体）のX線結晶構造が明らかになってきた。CaCAの基本構造は10回膜貫通ヘリックス（TM）型である。TM1-5とTM6-10は類似構造をとっており、膜中央の軸で2回対称の位置付けに配置している。特に、TM2-3とTM7-8には原核生物から哺乳類までのCaCAスーパーファミリーで保存されるαリピート領域が存在し、分子中央のイオン結合ポケットを構成している。従来から膜トランスポーターの輸送機構として、「外開き構造」⇔「閉じた構造」⇔「内開き構造」の連続的な構造変化モデル（交互アクセスモデル）が提唱されている。CaCAの構造基盤はこのモデルと良く一致しており、TM1とTM6のクロスフィンガー状のゲーティングバンドルが斜めに滑るように動くことで、イオン結合ポケットに通じるイオン透過経路が内・外側に交互に形成される構造変化モデルが構築された（下記URL）。哺乳類NCX1と原核生物CaCAの全アミノ酸はかなり異なっているが、基質イオン結合に関わる主要アミノ酸は良く保存されている。従って、イオン輸送の基本様式は幅広い種において共通であると考えられる。以前に報告したNCX1の変異機能解析において、イオン結合に関わる周囲アミノ酸（相同部位）への変異導入は輸送活性を減弱させる結果となっている。また、その近傍の特定アミノ酸の変異はNCX阻害薬の効力を著しく低下させる結果となっている。このように、これまでのNCX1変異解析の結果は、CaCA結晶構造から推定されるNCX1の構造と機能に良く一致している。

https://science.sciencemag.org/highwire/filestream/594469/field_highwire_adjunct_files/0/1239002s1.mov

# S2-2 アクチン細胞骨格による心臓機能の調節機構

武谷 立
宮崎大学 医学部 薬理学分野

心筋の収縮単位であるサルコメアは、ミオシン線維上に存在するミオシン・モーターがアクチン線維を牽引することで収縮する。つまり、サルコメアの収縮にとって、分子モーターであるミオシンが発生する力と並んで、アクチン線維の構造的安定性が必要である。一方で、拍動している心筋細胞内では、アクチン線維を構成するアクチン分子が活発にターンオーバーしていることが近年明らかとなっている。このターンオーバーは、心筋の恒常性維持に必須である反面、力の発生に関わるアクチン線維の数を減らしてしまうため、心機能の保持のためには厳密に制御されていなければならないが、その分子機序は不明である。我々は、非筋細胞においてアクチン・ターンオーバーの制御に関わるフォルミン蛋白質ファミリーの研究を進める過程で、その一員であるFhod3が心臓に強く発現しており、心臓の発生ならびに心機能の保持に必須の役割を果たすことを明らかにしてきた。この分子機構を明らかにするために、心筋サルコメアにおけるFhod3の結合タンパク質を探索した結果、心筋ミオシン結合タンパク質C（cMyBP-C）を同定した。cMyBP-Cは、心筋サルコメア内のアクチン線維とミオシン線維の重複領域に局在して、クロスブリッジ制御を介して心機能を調節していると考えられており、実際にcMyBP-Cの遺伝子変異は家族性肥大型心筋症の主因のひとつである。興味深いことに、cMyBP-C欠損マウスにおける心筋症様の表現型は、Fhod3の過剰発現によって増悪し、逆にFhod3タンパク質レベルの低下により部分的に改善した。これらの結果は、少なくとも一定の条件下ではFhod3は心機能に対して有害な作用を及ぼすことを示唆する。そこで今度は、単離した心臓にフォルミン蛋白質の阻害剤を作用させて収縮力への効果を検討したところ、Fhod3が直接的に心機能の制御に関わることが想定された。本シンポジウムでは、Fhod3による心機能の調節機構の分子メカニズム、さらには、本マシナリーを標的とした心機能の人為的制御の可能性について議論したい。

# S2-3 トランスポーターを分子標的とした創薬

○安西 尚彦、平山 友里
千葉大学大学院医学研究院 薬理学

細胞の生存と機能維持にとって、細胞膜を介したイオンや有機物質の輸送は必須と言える。細胞膜は脂質二重層により構成されているため、脂溶性物質に対しては障壁とはならず、単純拡散で通過できるのに対し、イオンや生体代謝に関与する多くの水溶性物質は細胞膜不透過であり、それらの膜通過には特別な通路を必要とする。これがイオンチャネルやトランスポーター等の膜輸送タンパク質である。

今回の話題とするトランスポーターはチャネルとは異なり水路を持たず、輸送のたびに基質結合部位の向きを細胞内・外に一回ごとにスイッチ・リセットしながら物質を輸送するとされる。このためトランスポーターの輸送率はチャネルのそれよりも極めて遅い。またトランスポーターは、チャネルとは異なり輸送基質として内因性物質に加え、薬物や環境化学物質など含む多くの外因性物質も認識する。この「多選択性」の輸送もトランスポーターの特徴である。

トランスポーターは現在ATPの加水分解エネルギーを利用して輸送を行うABC（ATP binding cassette）スーパーファミリーと、ATPのエネルギーを用いず輸送を行うSLC（Solute carrier）スーパーファミリーの二つに分けられ。前者はヒトにおいては48種類の遺伝子が同定され、後者は360種類の遺伝子が同定されている。

トランスポーター遺伝子異常によって生ずる疾患は加齢とともに増加し、50歳以降の高齢化疾患関連遺伝子の約10％にトランスポーターが関連するとされており、近年のゲノムワイド関連解析（GWAS）による生活習慣病発症因子としての重要性から、トランスポーター分子を標的とする治療薬開発にも期待がかかる。特に血液中に存在する水溶性有機物質は糸球体濾過を受けた後、近位尿細管による再吸収を受けて全身循環に戻るにはこの「トランスポーター」による上皮輸送が必須であることから、（代謝性）疾患と関連する有機物質のトランスポーターの阻害薬を開発し、同薬物により再吸収の調節を行うことで、腎臓からの全身の制御を可能にすることにも期待がかかる。SGLT2阻害薬はその端緒と言える。

以上のように、トランスポーター研究は今後益々その重要性を増して行くものと思われる。以上を踏まえ、「トランスポーターを分子標的とした創薬」が今後どのように展開して行くのか、自験例をもとに紹介をさせて頂きたい。

# YIA セッション

11月15日（金） 9：05～10：35

座長：和田 孝一郎（島根大学 医学部 薬理学）
西村 有平（三重大学大学院医学系研究科 統合薬理学）

# YIA-1 Hedgehog pathway の阻害は椎間板変性と椎体骨棘形成を抑制する

○福田 北斗、中村 英一郎、佐羽内 研、塚本 学、岡田 祥明、高田 真一朗、酒井 昭典
産業医科大学 医学部 整形外科学

**【背景】**変形性脊椎症は椎間板変性及び骨棘形成を伴う変性疾患である。我々の先行研究では変形性関節症における骨棘形成には内軟骨性骨化のプロセスを示し、Hedgehog pathway の関与が示唆されている。一方、椎間板の発生では髄核に Sonic hedgehog、椎体終板に Indian Hedgehog の発現が知られている。本研究では、内軟骨性骨化の過程や椎間板の形成過程で重要な役割を果たす Hedgehog pathway の膜蛋白である Smoothened（Smo）を時間特異的にノックアウトし椎間板変性、骨棘形成に与える影響を調査した。

**【方法】**タモキシフェン（Tam）投与により Smo を時間特異的にノックアウトする RosaCreER（T）；Smo/flox マウス（Smo cKO）を使用した。Smo cKO 群と対照群それぞれに Tam を生後3週，5週，術3日前，術前日に投与した。椎間板変性モデルは、8週齢で第4腰椎両側下関節突起を切除し、術後1週後から8週間、1m 高のクライミングケージ内で飼育し抗重力運動を負荷した。術後9週で屠殺し HE 染色、Safranin O 染色、免疫染色を行った。椎間板変性は Masuda 分類で評価した。次いで、Smo 阻害薬ソニデジブの腹腔内投与による椎間板変性への影響を検討した。8週齢野生型マウスに前述手術を行い、対照群とソニデジブ投与を術直後、術後2週、術後4週から開始し3日毎に投与した3群を作成、術後10週で屠殺し Masuda 分類で評価した。術前と屠殺時に $\mu$CT を撮像し椎間板高低下率を測定した。

**【結果】**椎間板変性は、Masuda 分類で対照群では8点以下が60%、9点以上は40% であったのに対し Smo cKO 群では8点以下が90%、9点以上が10% であり、Smo cKO 群で椎間板変性が有意に抑制されていた。対照群は終板軟骨に多くの肥大軟骨細胞を認め隅角部に骨化領域が見られ CD31 と VEGF の発現がみられたが、Smo cKO 群はそれらの変化が無い、もしくは明らかに減少していた。また、ソニデジブ術直後投与群は生食水投与の対照群に比べ有意に椎間板高低下と椎間板変性が抑制されていた。

**【結論】**Smoothened のノックアウトや阻害薬投与で椎間板変性と骨棘形成が有意に抑制された。変形性脊椎における骨棘形成や椎間板変性には Hedgehog pathway が関与している事が示唆された。

# YIA-2 ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）受容体刺激による Pyk2の活性化とその生理的意義

○澳津 志帆、仲嶺 三代美、山本 秀幸
琉球大学大学院 医学研究科 生化学講座

ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）の受容体は、下垂体前葉のゴナドトロピン産生細胞に加えて、GnRH ニューロンにも発現している。GnRH 受容体は G タンパク質共役型受容体に属し、主に $G_{q/11}$ を活性化させる。私たちは以前に GnRH ニューロンの培養細胞株（GT1-7細胞）では、GnRH 受容体刺激による extracellular signal-regulated kinase（ERK）の活性化に CaM キナーゼ II の δ2アイソフォーム（CaMKII δ2）が関与することを見出した[1)]。また GnRH 受容体刺激により、プロテインキナーゼ D1（PKD1）を介して、Fyn による Proline-rich tyrosine kinase 2（Pyk2）の活性化が引き起こされることを報告した[2)]。最近、ErbB ファミリーのリガンドである HB-EGF の前駆体の切断に Pyk2 と CaMKII が関与することを見出した[3)]。今回、CaMKII δ2の Pyk2の活性化への関与と Pyk2による ERK の活性化経路について検討した。CaMKII の阻害薬（KN93）と CaMKII δ2の siRNA により、GnRH による Pyk2の活性化が抑制された。また、CaMKII δ2の過剰発現やイオノマイシンにより Pyk2が活性化され、これらの活性化も KN93により抑制された。次に、Pyk2による ERK の活性化経路について検討した。まず、FLAG 融合型 Pyk2（FLAG-Pyk2）を過剰発現させ、抗 FLAG 抗体を用いた免疫沈降後の免疫ブロットにより、FLAG-Pyk2と Grb2との結合を検討した。FLAG-Pyk2と Grb2との結合は GnRH 存在下でのみ認められた。この結合は、881番目のチロシンをフェニルアラニンに置換した変異体｛FLAG-Pyk2（Y881F）｝の過剰発現では認められなかった。GnRH による ERK の活性化は、ErbB ファミリーを阻害する濃度の AG1478では抑制されず、Grb2の siRNA により抑制された。さらに、Ras（Kobe2602とマニュマイシン A）、Raf（BAY43-9006）および MEK1/2（U0126）の阻害薬により、GnRH による ERK の活性化が抑制された。すなわち、活性化された Pyk2は、主に、Grb2-Ras-Raf-MEK1/2経路を介して ERK を活性化させることが示唆された。

【参考文献】
1）Yamanaka et al., 2007.
2）Higa-Nakamine et al., 2015.
3）Okitsu-Sakurayama et al., 2018.

# YIA-3 暗期に増加するEAAC1は脳虚血後のキレータブル亜鉛を介した海馬障害を軽減させる

○新武 享朗[1)2)]、東 洋一郎[1)]、濱田 朋弥[1)]、清水 孝洋[1)]、清水 翔吾[1)]、Zou Suo[1)]、山本 雅樹[1)]、長尾 佳樹[1)]、中村 里菜[1)]、秋澤 俊史[1)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座

2）日本学術振興会 特別研究員

**【目的】**脳梗塞はその発症に概日リズムが認められ早朝に発症することが多く、重篤度の高さが指摘されている。また、げっ歯類において一過性脳虚血再灌流（I/R）後の神経細胞死や炎症応答の程度の処置時刻による変化が報告されているが、その機序はほとんど理解されていない。一方、脳内キレータブル亜鉛（$Zn^{2+}$）は海馬神経細胞シナプス小胞に貯蔵されており、I/R時に細胞外へ大量に放出される。この放出された$Zn^{2+}$は他の神経細胞に集積し神経細胞死を惹起する。このような$Zn^{2+}$毒性に対して興奮性アミノ酸輸送体（EAAC1）は毒性の軽減に寄与していると考えられている。近年、中脳におけるEAAC1発現の日内変動が報告されている。そこで、本研究はI/R後の海馬における神経細胞内（$Zn^{2+}$集積を介した神経細胞死が処置時刻により変化するか否かおよび海馬EAAC1の日内変動を明らかにすることを目的とした。

**【方法】**明期開始4時間後（明期群）または暗期開始4時間後（暗期群）の雄性C57BL/6マウス（12-14週齢）の両側総頸動脈を40分間閉塞し、I/Rを誘導した。I/R 72時間後の海馬における神経細胞内$Zn^{2+}$集積について$Zn^{2+}$プローブ（TSQ）を用いて検討した。また、生存神経細胞数は神経細胞マーカー（NeuN）を用いた免疫組織化学染色法により検討した。海馬におけるEAAC1発現量についてウェスタンブロット法により検討した。I/R処置時刻による病態変化とEAAC1の関連性を調べるため、EAAC1阻害薬（TBOA, 100$\mu$M, 2$\mu$L）を脳室内前投与し、I/R 72時間後の海馬における神経細胞内$Zn^{2+}$集積についてTSQ、神経細胞数についてNeuNを用いて検討した。

**【結果】**I/R処置により海馬歯状回およびCA3領域におけるTSQ陽性細胞が明期群ならびに暗期群の両群で観察されたが、どちらの領域においても明期群と比べて暗期群のTSQ陽性細胞数は有意に少なかった。また、I/R処置によりNeuN陽性細胞数の減少が観察されたが、明期群と比べて暗期群において減少が抑制されていた。海馬におけるEAAC1発現量は明期に比べて暗期で増加していた。暗期においてTBOAは、I/R処置後のTSQ陽性細胞数をさらに増加させ、NeuN陽性細胞数をさらに減少させた。

**【考察】**I/R誘導性海馬神経細胞内$Zn^{2+}$集積が処置時刻によって変化し、これが神経傷害の重篤化と相関していることが明らかになり、処置時刻による$Zn^{2+}$集積量の変化に海馬EAAC1発現の日内変動が関与していることを示唆する新しい知見を得ることができた。

# YIA-4 大動脈弁異所性石灰化の分子メカニズムの解明

○坂上 倫久[1)2)]、濱口 美香[3)]、青野 潤[3)]、中城 公一[4)]、倉田 美恵[5)]、大嶋 佑介[6)]、東山 繁樹[2)]、泉谷 裕則[1)]

1）愛媛大学大学院 医学系研究科 心臓血管・呼吸器外科
2）愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 細胞増殖・腫瘍制御部門
3）愛媛大学大学院 医学系研究科 循環器・呼吸器・腎臓血圧内科学
4）愛媛大学 医学部 口腔顎顔面外科学講座
5）愛媛大学大学院 医学系研究科 解析病理学
6）東北大学 大学院医工学研究科

**【目的】**大動脈弁狭窄症（AS）は、弁が石灰化や線維化により狭窄を生じる病態であるが、その薬物治療法は今も存在しない。弁石灰化には、弁間質細胞の形質転換と異常な増殖が関わるが、その分子機構を解明することがAS治療薬開発にとって重要である。今回我々は、弁置換術によって得られる大動脈弁から弁間質細胞（VIC）を採取し、培養方法の最適化を行うとともに、弁石灰化部位と非石灰化部位由来のVIC間で網羅的遺伝子発現比較解析を実施することで、弁石灰化に関わる重要な遺伝子の同定を目指した。

**【方法】**AS患者由来摘出大動脈弁を石灰化部位と非石灰化部位にトリミングし、コラゲナーゼ処理により弁組織を消化した。その後、VICをdishに播種し、normoxiaとhypoxiaでCO2インキュベータにて培養した。両群における細胞増殖活性についてはWST1 assayにより評価した。さらに、アフィメトリックス社製マイクロアレイ解析により、AS患者5人の石灰化部位及び非石灰化部位から調整したVICの遺伝子発現プロファイルを明らかにした。発現量に有意な差を認めた遺伝子群については、ウェスタンブロット法と免疫組織染色法によりタンパク質レベルでの発現解析を実施した。

**【結果】**Hypoxia培養法はnormoxiaに比べて有意に高い増殖率を示した。石灰化部位、非石灰化部位由来VICおいて、その細胞形態に大きな違いが認められた。また、マイクロアレイ解析の結果、正常部位に比べて病変部位で顕著に発現上昇している遺伝子として19種同定した。これらのうち、AS患者由来弁の石灰化部周辺の間質細胞で強く染色されたものの、剖検より得られた健常弁ではほとんど発現を認めなかった因子を確認した。19種のうちの一つであるシクロオキシゲナーゼ1は、VIC石灰化に伴って発現亢進するが、RNA干渉を用いた発現抑制により、VIC石灰化も劇的に抑制された

**【考察】**同定した遺伝子群は、弁の石灰化部位周辺に強く発現していることから、病態形成に寄与する可能性が極めて高く、AS治療薬の標的分子として有望であると示唆される。

# YIA-5 低酸素血症を伴う特発性肺線維症患者への nintedanib 投与は肺高血圧症を悪化させる

○田原 正浩[1)]、小田 桂士[1)]、山﨑 啓[1)]、川口 貴子[1)]、先成 このみ[1)]、野口 真吾[1)]、坂本 憲穂[2)]、川波 敏則[1)]、迎 寛[2)]、矢寺 和博[1)]

1）産業医科大学 医学部 呼吸器内科学

2）長崎大学病院 第二内科

**【背景】**特発性肺線維症（IPF）は進行性の肺機能低下を特徴とする予後不良疾患であり、現在抗線維化薬である nintedanib が治療薬として広く用いられている。VEGF, FGF, PDGF 受容体阻害薬である nintedanib の投与と低酸素への曝露は、その薬理学的機序から IPF 患者の肺高血圧症を悪化させることが懸念されている。しかしながら、低酸素血症を伴う IPF 患者における nintedanib の肺高血圧症への影響については一定の見解を得ていない。

**【目的】**IPF 患者における nintedanib 投与の肺高血圧症への影響を、在宅酸素療法を行っている患者と行っていない患者において評価する。

**【対象と方法】**当院において、nintedanib を48週継続した IPF 患者16名を対象とし、経胸壁心エコーで評価した推定肺動脈収縮期圧（PASP）の変化を解析した（nintedanib 前向き観察研究）。また nintedanib 治療群の PASP 年間変化量を抗線維化薬治療が行われなかった群（n＝15）と比較した（ヒストリカルコントロール研究）。

**【結果】**nintedanib 前向き観察研究では、在宅酸素療法を行っている IPF 患者においてのみ、nintedanib 開始48週後の PASP が、開始前と比較して有意な上昇を認めた（P＝0.001）。一方、ヒストリカルコントロール研究では、在宅酸素療法を行っていない患者においてのみ、nintedanib 治療群の PASP 年間変化量は抗線維化薬治療が行われなかった群と比較して有意に少なかった（0.26 ㎜Hg vs 7.05 ㎜Hg；P＝0.011）。

**【結論】**IPF 患者に対する nintedanib 投与の肺高血圧症への影響は、在宅酸素療法の有り無しで異なることが示唆された。在宅酸素療法が行われている（低酸素血症を伴う）IPF 患者において、nintedanib 治療は肺高血圧症を悪化させる恐れがある。一方、在宅酸素療法が行われていない（低酸素血症を伴わない）IPF 患者においては、nintedanib 治療が肺高血圧症に対して保護的に働く可能性が示唆された。

# YIA-6 Age-related changes of responses to hydrogen sulfide in the bladder of spontaneously hypertensive rats

○Zou Suo[1)]、清水 孝洋[1)]、清水 翔吾[1)]、尾野 秀彬[1)2)]、清水 陽平[1)2)]、
畑 優里佳[1)2)]、山本 雅樹[1)]、新武 享朗[1)3)]、長尾 佳樹[1)]、濱田 朋弥[1)]、
東 洋一郎[1)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座
2）高知大学 先端医療学推進センター
3）日本学術振興会 特別研究員

**Aim of study:** We have already confirmed that hydrogen sulfide ($H_2S$) is a possible relaxation factor in the rat bladder. Moreover, we recently reported that $H_2S$-induced bladder relaxation is impaired in 18-week-old spontaneously hypertensive rats (SHRs), which show bladder dysfunctions. Because in SHRs, bladder dysfunctions develop after hypertension has been established and progressed, we compared effects of NaHS and GYY4137 ($H_2S$ donors) on the bladder contractility and the micturition reflex, and $H_2S$ contents in the bladder between 12- (12W) and 18-week-old (18W) male SHRs.

**Methods:** Effects of NaHS ($1\times10^{-8}$ to $3\times10^{-4}$ M) were evaluated on carbachol ($10^{-5}$ M)-induced pre-contracted bladder strips. Under urethane-anesthesia (0.8 g/kg, ip), effects of intravesically instilled GYY4137 ($10^{-8}$ to $10^{-6}$ M) on the rat micturition reflex were examined. Tissue $H_2S$ contents were measured by the methylene blue method.

**Results:** NaHS-induced maximal relaxation was significantly higher in the strips of 12W SHRs than those of 18W SHRs. GYY4137 significantly prolonged intercontraction intervals in 12W SHRs, but not in 18W SHRs. The $H_2S$ content in the bladder of 18W SHRs was significantly higher than that in 12W SHRs.

**Conclusions:** $H_2S$-induced bladder relaxation in SHRs is impaired time-dependently, indicating a possibility that early intervention in SHRs with $H_2S$ donors may prevent the development of hypertension-mediated bladder dysfunctions.

# YIA-7 Identification of Emetine as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Hypertension in Rats-Novel Effects of an Old Drug-

○Siddique Mohammad Abdul

Department of Cardiovascular Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

Background: Proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs) promotes the development of pulmonary arterial hypertension (PAH).

Methods and Results: To discover a novel drug, we screened 5,562 compounds from the original library with PAH-PASMCs and identified that emetine inhibits PAH-PASMC proliferation. In MCT-induced PH in rats, the animals were treated with emetine (0.05 mg/kg/day) or vehicle for 3 weeks. Emetine significantly reduced right ventricular systolic pressure (RVSP) (57 ± 3 vs. 77 ± 4 mmHg), RV hypertrophy (RVH), and PA remodeling compared with controls (n=14~15). Next, after the establishment of PH with SU5416 and 10% O2 for 3 weeks followed by normoxia for 6 weeks, the animals were treated with emetine (0.05 mg/kg/day) or vehicle for 4 weeks. Emetine significantly reduced RVSP, RVH, and PA remodeling compared with controls (n=11). Finally, emetine improved exercise capacity, RV functions and reduced protein levels of cyclophilin A, basigin, and Rho-kinase activities in both models in vivo.

Conclusions: Emetine is a novel drug for the treatment of PAH (*Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. in press).

# YIA-8 Metabolically and immunologically beneficial impact of extra virgin olive and flaxseed oils on composition of gut microbiota in mice

○Millman Jasmine、岡本 士毅、山崎 聡、益崎 裕章
1）琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科講座（第二内科）

Systemic, low grade inflammation, a central aspect of metabolic disease, is strongly linked to consumption of Western style diets and pro-inflammatory saturated fatty acids (SFA). Excess energy and SFA intake not only cause inevitable weight gain but can lead to dysbiosis of gut microbiota, compromise intestinal barrier and mucosal immune function, leading to endotoxemia and rising levels of inflammation.

Functional foods, extra virgin olive oil (EVOO) and (FO) have been shown to be beneficial for chronic inflammation and cardio-metabolic derangement. To date, little is known about the effect of EVOO and FO on gut microbiota and intestinal immunity. We therefore aimed to assess the impact of EVOO and FO on gut microbiota, mucosal immunity and metabolic health in mice.

We exposed C57BL/6J mice to a low fat (LF), lard (HF), high fat-extra virgin olive oil (HF-EVOO) or high fat-flaxseed oil (HF-FO) diet for 10 weeks. Gut microbiota analysis was undertaken using 16S rRNA sequencing. Levels of mRNA for genes involved in intestinal immunity were measured by qPCR. HF-EVOO and HF-FO mice exhibited a greater diversity in gut microbiota and lower abundance of the Firmicutes phylum versus HF mice ($P < 0.05$). HF-EVOO mice showed higher intestinal mRNA levels for FoxP3, a transcription factor and IL-10, an inducer of regulatory T cells versus HF mice ($P < 0.05$). The mRNA level of the antimicrobial peptide, RegIII $\gamma$, was markedly elevated in the ileum and proximal colon of HF-EVOO and HF-FO groups, respectively compared with HF group ($P < 0.05$).

In summary, our findings show that consumption of EVOO and FO in mice can positively modulate gut microbiota, increase overall microbial diversity and perturb dysbiosis as well as associated metabolic and immunologic abnormalities (Milman J et al. Eur. J. Nutr in press, 2019). Therapeutic use of EVOO and FO in modulating the gut environment and perturbing metabolic disease in human clinic-based interventions awaits further attention.

# 一 般 演 題
## （ポスター発表）

11月15日（金） 17：20～18：20

# P-01 Myosin-dependent actin stabilization as revealed by single-molecule speckle（SiMS）analysis of actin turnover

○山城 佐和子[1)2)]、田中 聡一郎[3)]、Vavylonis Dimitrios[4)]、渡邊 直樹[1)2)]

1）京都大学 医学研究科 神経・細胞薬理学教室
2）京都大学大学院生命科学研究科 分子動態生理学分野
3）東北大学大学院生命科学研究科 分子生命科学専攻
4）Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA, USA

How mechanical stress applied to the actin network modifies actin turnover has attracted considerable attention. Actomyosin exerts the major force on the actin network, which has been implicated in actin stability regulation. However, direct monitoring of immediate changes in F-actin stability upon alteration of actomyosin contraction has not been achieved. Here we reexamine myosin regulation of actin stability by using single-molecule speckle analysis of actin. To avoid possible errors attributable to actin-binding probes, we employed fluorescent actin labeled with DyLight dye on lysine, which distributes identical to F-actin in lamellipodia. We performed time-resolved analysis of the effect of blebbistatin on actin turnover. Blebbistatin enhanced actin disassembly in lamellipodia of fish keratocytes and lamellar of Xenopus XTC cells at an early stage of the inhibition, indicating that actomyosin contraction stabilizes cellular F-actin. In addition, our data show a previously unrecognized relationship between the actin network-driving force and the actin turnover rates in lamellipodia. These findings with direct observation of actin turnover at the molecular level provides new insights into actin dynamics and myosin function in cell migration.

# P-02 ヒトiPS細胞技術を用いた新たなin vitro神経毒性評価法の開発

○諫田 泰成、山田 茂、常本 和伸
国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

医薬品や化学物質の発達期における神経毒性（DNT）は、妊娠ラットに被験物質を投与して生まれてきた仔ラットの機能観察試験や行動、反射、驚愕反応、病理組織などにより評価を行う。しかしながら、動物を用いた試験法はコストや種差、スループット性などの問題があることから、新たなin vitro毒性評価系が期待されており、現在、OECDにおいてin vitro DNT試験法の議論が進められている。

そこで我々は、ヒトiPS細胞の神経分化能およびiPS神経細胞の機能をもとに、新たなin vitro DNT評価法の開発を行った。まずヒトiPS細胞の分化能はPax6などのマーカー発現により評価した。OECDのin vitro DNT専門家会議の化学物質リストの中から、陽性対照物質として抗がん剤を用いた。ヒトiPS細胞に抗がん剤を曝露した結果、神経分化が顕著に抑制されることを見出した。次に、そのメカニズムを検討した。抗がん剤の曝露により細胞内ATP量が減少したことから、我々はミトコンドリアに着目し、その機能に重要な形態を調べた。その結果、の暴露により、ミトコンドリアの融合因子であるMfn1タンパク質の発現が減少し、分裂形態のミトコンドリアを有する細胞数の増加が認められた。Mfn1ノックダウンにより神経分化が抑制されたことから、TBTによる神経分化抑制は、Mfn1タンパク質の減少による可能性が示唆された。一方、ソルビトールなどの陰性対照物質は神経分化やATPに特に影響を与えなかった。

さらに、ヒトiPS細胞由来神経細胞を用いて、多点電極アレイ（MEA）システムにより神経活動を記録した。ピクロトキシンでMEAのプロトコルを確定した。現在、抗がん剤などの暴露により、スパイクやバーストなどの評価を実施中である。

以上より、ヒトiPS細胞の神経分化能および機能評価は、in vitro発達神経毒性評価に有用であることが示唆された。今後、医薬品や化学物質の数を増やして、再現性や信頼性等を検証する予定である。

# P-03 A new approach for atopic dermatitis treatment by fucoxanthin

○Tomoko Aoyama[1)], Chika Natsume[1)], Nao Aoki[1)], Riki Hirashima[1)], Yasutaka Azuma[2)], Takashi Fujita[1)]

1）Molecular Toxicology Lab., Ritsumeikan University

2）Veterinary Pharmacology Lab., Division of Veterinary Science, Osaka Prefecture University

Fucoxanthin (FX) is one of the xanthophyll enriched in marine plants, while its precise action of mechanisms to mammalian cells were not clarified. The biological action of FX is known for its antioxidant and anti-obesity activities. Topical application of FX is suggested to improve skin problems. In this study, the effect of FX was examined comparing the effect to atopic dermatitis model: NC/Nga mice with tacrolimus (Tac).

FX dramatically ameliorated skin symptoms and itching behavior than Tac did accompanied with mast cell infiltration. In Nc/Nga mice, FX or Tac topical treatment to skin inhibited mast cell differentiation and infiltration, while FX stimulated Il-2, Il-10. Additionally, both compounds stimulated Tgf$\beta$ expression levels. These combined evidences demonstrated that topical FX treatment modulate Th2-Treg subsets, that control normalized immune-responses including helper T cells recruitment in atopic dermatitis model.

# P-04 SCN9A 遺伝子異常による肢端紅痛症患者に対するラコサミドの有効性と安全性の評価

○山口 さやか、伊藤 誠、宮城 拓也、山本 雄一、高橋 健造
琉球大学 大学院医学研究科 皮膚科学講座

【はじめに】肢端紅痛症は、下肢の灼熱感、発赤、皮膚温の上昇を示し、運動や加温によって悪化するが、冷却により症状が緩和される疾患である。疼痛が持続し、常に冷却を余儀なくされる重症例もみられ、社会生活への障害のみならず、患者の受ける精神的苦痛は計り知れない。現在のところ有効な治療法はない。原因の一つに、電位依存性ナトリウムチャネルをコードするSCN9A遺伝子変異による、常染色体優性遺伝性疾患の家族性原発性肢端紅痛症がある。その機序はgain of functionにより、ニューロンの過興奮性が持続される結果、小径線維ニューロパチーが生じる。抗てんかん薬であるラコサミドは、ナトリウムチャネルを不活性化させる作用から、肢端紅痛症の治療薬として有効であることが示唆されている。

【目的】本研究では、SCN9A変異による肢端紅痛症と診断した症例へラコサミドを投与し、その有効性と安全性を評価することを目的とする。

【症例】症例は19歳男性、4歳時より両足の痛みが出現し、12歳ごろから疼痛にて不眠の状態となった。氷水でのみ疼痛が緩和され、浸水依存のため、蜂窩織炎を繰り返していた。父親と双子の兄、妹にも症状は軽度であるが、肢端紅痛症がある。SCN9A遺伝子変異SCN9A mutation（c.406A ＞ G.p. I136V、heterozygosis）を確認し、家族性原発性肢端紅痛症と診断した。

【方法】ラコサミド50㎎/日の投与を開始する。1週間おきに50㎎/日ずつ増量する。4週間で200㎎/日まで増量し維持する。副作用がなければ、てんかん治療に用いる最高投与量400㎎/日まで（1週間毎に50㎎/日漸増）増量可能とする。なお、Ccr30 mL/min以下の症例の漸増は300㎎/日までとする。16週間後に評価し、効果を判定する。

評価は、PI-NRS（the daily Pain Intensity Numerical Rating Scale）とDSIS（the daily sleep interference scale）にて行う。

【結果】ラコサミド投与開始し19ヶ月間では、PI-NRSスコアの上昇はみられなかった。DSISは8から1に低下した。患者は、ラコサミドを投与開始してから、冷水依存から脱却することができた。ラコサミド投与中、副作用はなく、安全であることを確認した。

ラコサミドはSCN9A変異による肢端紅痛症に有効である可能性がある。

# P-05 ゼブラフィッシュを用いた新規神経発達関連遺伝子 c3orf70の機能解析

○白水 崇[1)]、芦川 芳史[1)]、三浦 亘揮[1)]、安達 優華[1)]、田中 年男[2)]、西村 有平[1)]
1）三重大学 大学院医学系研究科 統合薬理学
2）三重大学 大学院医学系研究科 システムズ薬理学

神経の発達に関わる遺伝子の機能解析は、神経疾患の病態解明にとって重要である。ゼブラフィッシュは発生過程の観察や行動解析などが容易であることから、神経発達の研究に適したモデル生物である。我々は、トランスクリプトーム解析により同定した新規神経発達関連遺伝子のノックアウトゼブラフィシュを作成し、その機能解析を行った。Ascl1（achaete-scute family bHLH transcription factor 1）またはNeurog2（neurogenin 2）の過剰発現により神経への分化誘導を行った幹細胞のトランスクリプトームデータ解析により、新規の神経発達関連遺伝子として、C3orf70を同定した。ゲノム編集によりc3orf70のノックアウトゼブラフィッシュを作成したところ、野生型のゼブラフィッシュに比べて、ノックアウトゼブラフィッシュでは神経細胞マーカーであるelavl3（ELAV like neuron-specific RNA binding protein 3）やeno2（enolase 2）の発現が低下していた。また行動解析の結果では、明暗変化による行動量の変化がノックアウトゼブラフィッシュでは低下していることが見いだされた。過去の報告では、行動障害や発達遅滞を示す患者のゲノムではC3orf70の挿入や欠失が見られている。またゲノムワイド関連解析により、C3orf70とうつ病との有意な相関も報告されている。以上のことから、C3orf70は神経の発達に関与し、その機能解析は神経疾患の病態解明に役立つと考えられる。

# P-06 Changes of urethral smooth muscle and external urethral sphincter function associated with age in rats

○大城 琢磨
琉球大学医学部 システム生理学講座

Aims of study: Aging causes changes in bladder activity, including detrusor hyperactivity with impaired contractile function. Our recent data showed that the bladder contractility of aged rats was decreased under urethane anesthesia, but it did not diminish under awake condition. But post-void residual urine volume was increased in both condition compared with young rats. To confirm this discrepancy, we investigated the differences of age dependent urethral function by simultaneous recording of intravesical pressure and urethral perfusion pressure (UPP), as well as external urethral sphincter electromyography (EUS-EMG).

Materials and methods: Female Sprague-Dawley rats (3-month young rats, 12-month middle aged rats and 24-month- aged rats) were used.

1) Urethral activity was evaluated by simultaneous recording of intravesical pressure and UPP under isovolumetric conditions, as well as EUS-EMG activity under urethane anesthesia in each group.
2) L-arginine (a substrate of NO synthase, 100 mg/kg) or N(G)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, an NO synthase inhibitor, 100 mg/kg) was administered to confirm the role of urethral smooth muscle activity.
3) Bungarotoxin (a neuromuscular blocker, 375 $\mu$g/kg) was also administered to confirm the role of EUS activity.
4) Masson's trichrome staining in the urethra was performed in each group.

Results:

1) The amplitude of bladder contractions in 24-month aging rats was decreased compared with that of 12-month middle aged and 3-month young rats. UPP change, defined as UPP nadir minus baseline UPP, was significantly smaller in aged rats (60%) and middle aged rats (64%) than in young rats ($P<0.05$). The mean amplitude of high-frequency oscillations (HFOs) of EUS was also significantly lower in aged rats (62%) and middle-aged rats (70%) than young rats ($P<0.05$).
2) In middle aged rats, impaired urethral relaxation was restored by L-arginine. UPP nadir during bladder contraction was inhibited by L-NAME in each group. In 3 out of 4 aged and 3 out of 9 middle aged rats showed a detrusor-sphincter dyssynergia pattern after L-NAME.
3) Bungarotoxin completely inhibited HFOs and EUS-EMG bursting activity in each rat group.
4) In Masson's trichrome stain of urethra, EUS hypotrophy was seen in aged rats compared with young and middle aged rats.

P-07

# 自然発症高血圧ラットにおける膀胱機能障害に対する $\alpha_1$ 受容体遮断薬シロドシンおよびPDE5阻害薬タダラフィルの治療効果

○清水 翔吾[1)]、長尾 佳樹[1)2)]、倉林 睦[3)]、片岡 環[1)4)]、鎌田 栞穂[1)4)]、Zou Suo[1)]、新武 享朗[1)5)]、津田 雅之[6)]、東 洋一郎[1)]、清水 孝洋[1)]、藤枝 幹也[2)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座
2）高知大学 医学部 小児思春期医学講座
3）高知大学 医学部 病理学講座
4）高知大学 医学部 先端医療学コース
5）日本学術振興会 特別研究員
6）高知大学 動物実験施設

**【目的】**膀胱血流量低下及び虚血は、頻尿や夜間頻尿といった畜尿障害を惹起する。自然発症高血圧ラット（SHR）は遺伝的に高血圧かつ膀胱血流量低下及び頻尿などの膀胱機能障害を呈する。前立腺肥大症治療薬である$\alpha_1$受容体遮断薬及びPDE5阻害薬は、排出障害のみならず畜尿障害に対しても有効であることが報告されている。今回、SHR膀胱機能障害に対する$\alpha_1$受容体遮断薬シロドシン及びPDE5阻害薬タダラフィルの効果を検討した。

**【方法】**12週齢雄性SHRに対し、シロドシン100 μg/kg、タダラフィル2 or 10 mg/kgまたはvehicleをそれぞれ6週間連日経口投与した。また、対照としてvehicle投与の雄性Wistar系ラットを加え、計5群で実験を行った。薬物投与後、血圧測定、代謝ケージによる排尿動態測定、膀胱内圧測定及び膀胱血流測定を行った。加えて膀胱組織中の酸化ストレスマーカーであるmalondialdehyde（MDA）及び炎症性サイトカイン（IL-6及びTNF-α）を測定した。

**【結果】**コントロール群に対し、SHRでは血圧が高値であり、排尿間隔の短縮、膀胱容量の減少、24時間排尿回数の増加、膀胱血流量低下が見られた。さらに、SHR膀胱組織中のMDA、IL-6及びTNF-αはコントロール群と比較し高値を示した。一方、シロドシンまたはタダラフィル高用量（10 mg/kg）投与は、SHRにおける排尿パラメーター（排尿間隔の短縮、膀胱容量の減少及び24時間排尿回数の増加）の改善、膀胱血流量の増加及び膀胱組織中のMDAの低下がみられた。しかし、各薬物投与は、SHRの平均血圧及び膀胱組織中の炎症性サイトカインには有意な影響を与えなかった。タダラフィル低用量投与は、SHRの各パラメーターに有意な影響を与えなかった。

**【結語】**シロドシンまたはタダラフィルは、SHRにおける膀胱血流量低下並び膀胱組織中の酸化ストレス傷害を改善することで膀胱機能障害を抑制する可能性が示唆された。

# P-08 前立腺肥大・前立腺委縮における加齢及び高血圧の影響

○鎌田 栞穂[1)2)]、清水 翔吾[1)]、片岡 環[1)2)]、長尾 佳樹[1)]、岡本 澪奈[1)2)]、Zou Suo[1)]、新武 享朗[1)3)]、濱田 朋弥[1)]、山本 雅樹[1)]、東 洋一郎[1)]、清水 孝洋[1)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座
2）高知大学 医学部 先端医療学コース
3）日本学術振興会 特別研究員

**【目的】**前立腺肥大症は、加齢、性ホルモンのバランス、虚血といった様々な因子が複雑に関与することが報告されている。自然発症高血圧ラット（spontaneously hypertensive rat：SHR）は遺伝的に高血圧かつ、一定の週齢を超えると、前立腺血流低下並びに腹側前立腺上皮を中心とした過形成を示す。本研究では、SHR を用いて、加齢及び高血圧が前立腺組織に及ぼす影響を検討した。

**【方法】**36,54,72 週齢（W）時での雄性 SHR 及び正常血圧ラット（WKY）を用いた（n＝6-8）。そして、各週齢時において、血圧測定、前立腺血流量測定、体重、前立腺及び精巣重量測定を行った。さらに、摘出した前立腺及び精巣を用いて HE 染色を行った。加えて、精巣組織中の酸化ストレスマーカー MDA 値を測定した。

**【結果】**

**（前立腺変化）**36W SHR は36W WKY と比較して、前立腺重量、体重に対する前立腺重量比の増加、腹側前立腺血流量低下及び平均血圧が統計学的高値を示した。54W SHR は54W WKY と比較して、体重に対する前立腺重量比の増加、腹側前立腺血流量低下及び平均血圧が統計学的高値を示したが、前立腺重量において有意差はみられなかった。72W SHR は72W WKY と比較して、平均血圧は高値を示し、前立腺重量は低値を示した。前立腺重量 / 体重において有意差はみられなかった。SHR では各週齢において、WKY と比較して腹側前立腺上皮を中心とした形態変化がみられた。

**（精巣変化）**36W SHR は36W WKY と比較して、精巣重量及び精巣重量 / 体重比において有意差はみられなかった。54 W SHR は54W WKY と比較して、精巣重量及び精巣重量 / 体重比の増加、精巣組織レベルにおいて血管壁の肥厚がみられた。また、72W SHR は、72W WKY と比較して、精巣重量の低下及び精巣重量 / 体重比の増加がみられた。さらに、SHR 精巣では血管壁の肥厚や精細管の空胞化や脱落等がみられた。全ての週齢の SHR 精巣において、MDA 値が同週齢 WKY ラットと比較し、高値を示した。

**【結語】**高血圧は前立腺血流低下を介し前立腺過形成を惹起する。しかし、加齢及び高血圧がより進行することで、精巣傷害を引き起こし、前立腺萎縮につながることが示唆された。

# P-09 前立腺過形成に対するPDE5阻害薬タダラフィルの治療効果

○片岡 環[1)]、清水 翔吾[1)]、鎌田 栞穂[1)2)]、長尾 佳樹[1)]、岡本 澪奈[1)2)]、Zou Suo[1)]、新武 享朗[1)3)]、濱田 朋弥[1)]、山本 雅樹[1)]、東 洋一郎[1)]、清水 孝洋[1)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座
2）高知大学 医学部 先端医療学コース
3）日本学術振興会 特別研究員

**【目的】**前立腺肥大症に伴う排尿障害は頻尿、排尿困難及び残尿感といった様々な症状が発生し、生活の質を低下させることが問題となっている。これまで我々は、自然発症高血圧ラット（spontaneously hypertensive rat：SHR）を用いて前立腺血流低下が、前立腺肥大症の原因となる前立腺過形成（過剰な細胞増殖）を惹起することを報告してきた。PDE5阻害薬タダラフィルは下部尿路臓器における平滑筋弛緩作用、血流改善作用等により、前立腺肥大症に伴う排尿障害に用いられている。しかし、前立腺過形成そのものに対するタダラフィルの効果はほとんど検証されていない。今回、SHR前立腺過形成に対するタダラフィルの効果を検討した。

**【方法】**12週齢雄性SHRにタダラフィル2 or 10 mg/kgまたはvehicle（0.5%メチルセルロース溶液）をそれぞれ6週間連日経口投与した。対照としてvehicle処置のWKYラット（コントロール）群を加えた計4群で実験を行った（n＝8）。無麻酔下での血圧測定・ウレタン麻酔下での腹側前立腺血流量後、前立腺を摘出し、組織重量を測定した。また、腹側前立腺の一部を恒温槽にてKClによる収縮とノルアドレナリン（NA）累積投与による最大収縮力を観察した。さらに、腹側前立腺組織中のマロンジアルデヒド（MDA：酸化ストレスマーカー）を測定並びに組織学的検討としてHE染色を行った。

**【結果】**SHRはWKYラットと比較して、体重に対する前立腺重量比の増加、腹側前立腺血流量低下、平均血圧及び腹側前立腺組織中のMDAが高値であった。さらに、SHRでは腹側前立腺上皮を中心とした細胞増殖がみられた。一方、KCl及びNA添加における前立腺平滑筋収縮においては、SHR及びWKY群間に統計学的有意な差はみられなかった。一方、タダラフィル投与群においては、用量依存的に腹側前立腺重量比の低下、前立腺血流量の増加、腹側前立腺組織中のMDA値の低下がみられた。さらに、タダラフィル投与により腹側前立腺組織の形態変化の抑制効果がみられた。一方、タダラフィル投与によるSHR平均血圧には有意な影響はみられなかった。

**【結語】**タダラフィルは前立腺血流量の増加及び前立腺組織中の酸化ストレスを抑制することで、SHR前立腺過形成を抑制する可能性が示唆された。

# P-10 ラット排尿反射抑制に関与する脳内ニコチン受容体サブタイプの薬理学的解析

○清水 陽平
高知大学 医学部 薬理学講座

**【目的】**我々はこれまで、ニコチン性アセチルコリン受容体（nAChR）刺激薬エピバチジン（EP）のラット脳室内投与が排尿反射を抑制することを明らかにした。本研究では、この排尿反射抑制に関与するnAChRサブタイプを中枢神経系における代表的なサブタイプである$\alpha4\beta2$型および$\alpha7$型に焦点を当てて解析した。

**【方法】**ウレタン麻酔下（0.8 g/kg, ip）にて、Wistar系雄性ラットの膀胱へ膀胱内圧測定（CMG）用のカテーテルを挿入後、頭蓋骨に脳室内投与用の小孔を開けた。その後、vehicleまたは下記薬物を脳室内前処置した：Mecamylamine（MEC、非選択的nAChR遮断薬、100 or 300 nmol/rat）、DH$\beta$E（$\alpha4\beta2$型nAChR遮断薬、100 or 300 nmol/rat）、MLA（$\alpha7$型nAChR遮断薬、100 nmol/rat）。各薬物前処置の30分後にEP（1 nmol/rat）を脳室内投与した。CMGは上記薬物前処置60分前より開始し、EP投与60分後まで継続した。CMGのデータより、下記排尿パラメーターを算出・評価した：排尿間隔（ICI、排尿頻度の指標）、最大排尿圧（MVP、膀胱収縮力の指標）。

**【結果】**脳室内投与EPはICIの延長を誘発した一方、MVPには影響を与えなかった。EPによるICI延長はMECまたはMLAの脳室内前処置により有意に抑制された。一方、DH$\beta$Eの脳室内前処置はEPによるICI延長に有意な影響を与えなかった。

**【結論】**脳室内投与されたEPは脳内$\alpha7$型nAChRを介して排尿反射を抑制することが示唆された。

# P-11 脳内一酸化窒素による頻尿誘発の脳内機序の薬理学的解析

○尾野 秀彬[1)2)]、清水 孝洋[1)]、Zou Suo[1)]、清水 陽平[1)2)]、山本 雅樹[1)]、
畑 優里佳[1)2)]、清水 翔吾[1)]、東 洋一郎[1)]、新武 享朗[1)3)]、齊藤 源顕[1)]

1）高知大学 医学部 薬理学講座
2）高知大学 医学部 先端医療学推進センター
3）日本学術振興会 特別研究員

**【目的】**我々はこれまで、一酸化窒素（NO）供与薬 SIN-1 のラット脳室内投与が頻尿を誘発することを明らかにした。本研究では、脳内 NO による頻尿誘発メカニズムをグルタミン酸（Glu）神経系との関連で解析した。

**【方法】**ウレタン麻酔下（0.8 g/kg, ip）にて、Wistar 系雄性ラットの膀胱へ膀胱内圧測定（CMG）用のカテーテルを挿入後、頭蓋骨に脳室内投与用の小孔を開けた。その後、vehicle または下記薬物を脳室内前処置した：Carboxy-PTIO（PTIO, NO 消去薬, 750 μg/rat）、MK-801（NMDA 型 Glu 受容体遮断薬, 10 or 30 nmol/rat）、DNQX（AMPA 型 Glu 受容体遮断薬, 1 or 3 nmol/rat）。各薬物前処置の 30 分後に SIN-1（250 μg/rat）を脳室内投与した。CMG は上記薬物前処置 60 分前より開始し、SIN-1 投与 60 分後まで継続した。CMG のデータより、下記排尿パラメーターを算出・評価した：排尿間隔（ICI、排尿頻度の指標）、最大排尿圧（MVP、膀胱収縮力の指標）。

**【結果】**脳室内投与 SIN-1 は ICI の短縮を誘発した一方、MVP には影響を与えなかった。SIN-1 による ICI 短縮は PTIO または MK-801 の脳室内前処置により有意に抑制された。一方、DNQX の脳室内前処置は SIN-1 による ICI 短縮に有意な影響を与えなかった。また PTIO、MK-801 あるいは DNQX 単独の脳室内投与は ICI に有意な影響を与えなかった。

**【結論】**脳室内投与された SIN-1 は NO 産生を介して頻尿を誘発し、その誘発作用には少なくとも NMDA 型 Glu 受容体が関与することが示唆された。

# P-12 亜鉛誘導性増悪化 M1 ミクログリアによるアストロサイトの食作用への作用の解析

○東 洋一郎
高知大学 医学部 薬理学講座

【目的】活性化ミクログリアは炎症性の M1 型と抗炎症性の M2 型に分類され、アストロサイトの食作用などの神経保護機能に影響を及ぼすことが報告されている。以前、我々は脳疾患時に海馬神経細胞より放出される亜鉛が M1 ミクログリアの炎症応答を増悪化させることを見出している。本研究は、初代培養細胞を用いて亜鉛誘導性増悪化 M1 ミクログリアがアストロサイトの食作用に影響を及ぼすか否かを明らかにすることを目的としている。

【方法】新生仔 C57BL/6 マウスを用いてアストロサイトおよびミクログリアの初代培養細胞をそれぞれ単離・培養した。亜鉛誘導性増悪化 M1 ミクログリアは培養細胞に 30-60 $\mu$M $ZnCl_2$ を 2 時間暴露し、その後、0.1-10 ng/mL lipopolysaccharide（LPS）を 22 時間処置することで誘導した。LPS 暴露後の培養上清を回収し、コンディションドメディウム（CM）としてアストロサイトに処置し、24 時間後のアストロサイトの食作用を蛍光ラテックスを用いて検討した。また、分子機序を解明するため、膜透過性亜鉛キレート薬または活性酸素除去薬存在下でミクログリアに $ZnCl_2$ 前処置ならびに LPS 処置を施し、同様の検討を行った。さらに、CM 暴露後のアストロサイトから mRNA を抽出し、食作用に関与している P2X7 受容体の発現変化をリアルタイム PCR 法により検討した。

【結果】LPS 処置後の CM をアストロサイトに暴露したところ、0.1-1 ng/mL LPS 処置後の CM はアストロサイトの食作用を濃度依存的に増加させたが、高濃度（10 ng/mL）LPS 処置後の CM はその作用が観察されなかった。$ZnCl_2$ の前処置は、1 ng/mL LPS 処置後の CM による食作用誘導能を抑制したが、膜透過性亜鉛キレート薬ならびに活性酸素除去薬により誘導能が回復した。また、LPS 処置後の CM はアストロサイトの P2X7 受容体の遺伝子発現を誘導したが、$ZnCl_2$ 前処置した CM では抑制されていた。

【考察】亜鉛誘導性増悪化 M1 ミクログリアは、アストロサイトに対する食作用誘導能が抑制されており、これはミクログリアにおける細胞内亜鉛集積ならびに活性酸素産生を介して分泌された液性因子によるアストロサイトの P2X7 受容体発現制御が関与していることが示唆された。

# P-13 個性別ラットの左右海馬における グルタミン酸受容体サブタイの発現量差の検討

○及川 弘崇[1)]、宮﨑 翔平[2)]、藤川 隆彦[1)2)3)]
1）鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 薬理・動態学研究分野
2）鈴鹿医療科学大学大学院 薬学研究科 医療薬学専攻
3）三重大学大学院 医学系研究科

**【背景】**脳は右半球と左半球に別れており、その脳機能の左右差が個性にどの様に影響するかは検討されていない。しかしながら、脳の左右非対称性と機能の研究は進展しており、言語能力は左脳優位、空間認知能力は右脳優位であることが知られている。したがって、脳の左右非対称性と多様な個性創発の関係性の証明は、テーラーメイド医療の観点からも社会的に重要である。

**【目的】**そこで本研究では、高所恐怖に対する「耐性」と「脆弱性」を基に個性判定を行ったラットを使用し、脳の左右非対称性で検討されているグルタミン酸受容体サブタイプ発現量について個性別ラットの左右差の検討を行った。

**【方法】**SD ラットを用いて改良型高架式ビームウォーキング（IEBW）試験を3分間行った。橋の上での滞在時間が90秒以下のラットを短期滞在型（S 型：脆弱性）と定義し、橋の上での滞在時間が121秒以上であるラットを長期滞在型（L 型：耐性）とした。IEBW 試験の後、ラットタッチスクリーン認識学習装置を用いた2画像弁別課題により、個性に応じたラットの学習能力を判断した。学習能力を決定した後、麻酔下屠殺したラット海馬を用いて、RT-qPCR 分析により、グルタミン酸受容体の mRNA の発現量を網羅的に解析し、個性別左右差を検討した。また、そこで得られた特徴的な mGluR3, GluR7, NR1サブタイプ特異的抗体を用いてウエスタンブロッティング解析を行った。

**【結果】**二画像弁別課題の結果より、S 型ラットは L 型ラットより誤タッチが少なく正答率が高かった。次に RT-qPCR の結果より、S 型ラットの右脳では GluR6と KA1の mRNA の発現量が左脳に比べて有意に高かった。そして、L 型ラットでは右脳において NR1の mRNA 発現量が左脳より有意に高く GluR7と mGluR3の mRNA の発現量が左脳より有意に低かった。ウエスタンブロッティング解析より、L 型海馬における NR1タンパク質の発現量は右脳において顕著に高かった。

**【考察】**高度ストレスに対して脆弱性を示すラットの学習能力は、耐性を示すラットの学習能力よりも優れていることが観察され、それは GluRs の発現レベル、特に海馬における NR1発現のバランスによるものであると考えられる。これは多様な個性創発を解析・分類する上でもっとも重要なキー分子となる可能性がある。

# P-14 エゾウコギエキス含有成分投与における高架上での行動並びにBDNF及びグルタミン酸受容体発現への影響

○宮崎 翔平[1)]、及川 弘崇[2)]、中尾 祥代[2)]、竹腰 英夫[3)]、緒方 正人[4)]、藤川 隆彦[1)2)4)]

1）鈴鹿医療科学大学大学院 薬学研究科 分子予防薬理学研究室
2）鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科
3）株式会社サン・クロレラ 生産開発部
4）三重大学大学院 医学系研究科

**【背景】**これまでの研究において、エゾウコギ（ASH）エキスはストレス性胃潰瘍発症抑制作用や高架上のおける抗不安作用並びに自律神経安定化作用を有することを明らかにした。またASHエキスが抗不安作用を示すとともに海馬でのBDNFを有意に増加させることが示された。また、近年では抗不安薬の標的としてグルタミン酸受容体が注目されておりBDNFとの関連も示唆されている。

**【目的】**そこで本研究では、ASHエキス及びその含有成分であるクロロゲン酸（CHA）、エレウテロサイドE（SYG）による抗不安作用（行動並びに自律神経活動）とBDNF及びグルタミン酸受容体のタンパク質発現への影響について検討した。

**【方法】**SDラットにASHエキス含有成分（CHA, SYG, CHAとSYGの混合物（Mix））を7日間経口摂取させた後、改良型高架式ビームウォーキング（IEBW）テストを3分間行いIEBW上での行動及び自律神経活動（LF/HF, LFnu［交感神経活動の指標］、HFnu［副交感神経活動の指標］）を評価した。IEBWテストの後、屠殺したラット海馬を用いて、BDNF, mGluR3, NR1, NR2Bサブタイプ特異的抗体を用いてウエスタンブロッティング解析を行った。

**【結果】**CHA群とMix群はオープンアーム滞在時間を有意に延長した。また、SYG群並びにMix群はLF/HFの上昇及びHFnuの低下を有意に抑制した。さらにMix群はLFnuの上昇を有意に抑制した。ウエスタンブロッティング解析によりSYG群並びにMix群でNR1サブユニットの発現が有意に増加し、さらにMix群ではNR2Bサブユニット並びに代謝型グルタミン酸受容体の1つであるmGluR3の発現が有意に増加していた。

**【考察】**ASHエキスによる抗不安作用にはSYGとCHAが複合的に作用していることが示唆された。ASHエキス含有成分の中でもCHAとSYGの組み合わせはBDNFとグルタミン酸受容体と相互に関連して抗不安作用に寄与している可能性が示唆された。

P-15

# Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Neurons in the Ventromedial Hypothalamus Increased Appetite Through the Change of Neuropeptides Expression in the Arcuate Nucleus of Mice

○Thanh Trung Nguyen[1)7)], Yuki Kambe[1)], Takashi Kurihara[1)], Tomoya Nakamachi[2)], Norihito Shintani[3)], Hitoshi Hashimoto[3)4)5)6)], Atsuro Miyata[1)]

1) Department of Pharmacology, Graduate School of Medical and Dental Science, Kagoshima University,
2) Laboratory of Regulatory Biology, Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama,
3) Laboratory of Molecular Neuropharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University,
4) United Graduate School of Child Development, Osaka University, Kanazawa University and Hamamatsu University School of Medicine,
5) Division of Bioscience, Institute for Datability Science, Osaka University,
6) Transdimensional Life Imaging Division, Institute for Open and Transdisciplinary Research Initiatives, Osaka University,
7) Department of Pharmacology, Toxicology, Internal Medicine and Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Vietnam National University

Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) is abundantly expressed in the hypothalamus among the central nervous system and contributes to the hypothalamic functions including appetite regulation. Although it is suggested that food intake is decreased in PACAP (-/-) mice, the detailed mechanism is still under discussion. To address this issue, we attempted to manipulate PACAP signaling, and investigated food consumption and peptide expression which are known to be involved in the appetite regulation in the hypothalamus. The food consumption of the (-/-) mice at 8 h refeeding after 2 days fasting was significantly lower than that of the PACAP (+/+) mice. The nocturnal and the daily food intake of (-/-) mice was significantly lower than those of (+/+) mice, but the diurnal food intake was unchanged. mRNA expression level of agouti-related peptide (AgRP) was decreased, but that of proopiomelanocortin (POMC) was increased in the hypothalamus of (-/-) mice at 4 h refeeding. Furthermore, intracerebroventricular administration of PACAP antagonist, PACAP6-38, decreased food intake and body weight in (+/+) mice 1, 2, 4 h after refeeding, and decreased the expression level of AgRP at 4 h refeeding. Among the subregions of hypothalamus, the PACAP mRNA expression of the ventromedial hypothalamus (VMH) was significantly increased by fasting rather than that of the paraventricular hypothalamus (PVH). The selective overexpression of PACAP by the infection of adeno-associated virus (AAV) in the VMH region resulted in an increment of the food intake in the nocturnal period and at 8 h refeeding, and increased the AgRP expression in the hypothalamus in the nocturnal period. We also demonstrated that effect of the activation of PACAPergic neurons by designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADDs) in the VMH significantly increased food intake as compared with control mice in the diurnal period. Moreover, clozapine N-oxide (CNO)-mediated inhibition of PACAP neurons in the VMH regions significantly reduced food intake at 2 h compared with control mice after fasting. Taken together, the present results suggest that the appetite is enhanced by the increment of PACAP expression in the VMH via modulation of AgRP expression.

# P-16 痛みによる負情動行動形成における PACAP 情報伝達系の関与

○橋口 浩平[1)2)]、下平 文香[3)]、Nguyen Thanh Trung[1)]、神戸 悠輝[1)]、杉村 光隆[2)]、高崎 一朗[3)]、栗原 崇[1)]、宮田 篤郎[1)]

1）鹿児島大学 医歯学総合研究科 生体情報薬理学分野
2）鹿児島大学 医歯学総合研究科 歯科麻酔全身管理学分野
3）富山大学 理工学研究部 生体情報薬理学分野

**【目的】**下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP：pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide）は、脊髄後角に分布し、痛覚伝達に関与することが知られている。近年我々のグループは、PACAP-PACAP 特異的（PAC1）受容体シグナルが疼痛発症・慢性化に強く関与することを見出し、In silico スクリーニングによる PAC1 受容体拮抗薬の選別、構造展開、各種疼痛モデルマウスを用いた有効性の評価を継続している。また最近我々は、マウス視床下部室房核への PACAP 強制発現により不安様行動が誘発されることを見出した。そこで慢性疼痛との併病率が高い負情動行動における PACAP 情報伝達系の重要性を評価するため、腰部脊髄神経結紮（L4/5 spinal nerve ligation：SNL）疼痛モデルマウスを用いた情動行動解析、および新規 PAC1 受容体拮抗薬の効果を検討した。

**【方法】**実験には ddY マウス、PACAP 遺伝子欠損（-/-）マウス、およびその野生型（+/+）マウス（いずれも雄性）を使用した。疼痛関連行動評価は vonFrey フィラメントを用いた 50% 逃避閾値測定で行い、情動関連行動評価にはオープンフィールド、および尾懸垂試験を用いた。

**【結果】**SNL 処置は、ddY マウス、および PACAP（+/+）マウスに術後少なくとも 2～3 週間持続する不安様行動、およびうつ様行動を誘発するが、PACAP（-/-）マウスにおいてはその発現は著明に減弱していた。また、一部の新規 PAC1 受容体拮抗薬は、特に SNL 誘発不安様行動発症を抑制した。

**【考察】**これまでの先行研究および我々の研究結果から、一次知覚神経－脊髄後角における PACAP-PAC1 受容体シグナル伝達系は疼痛の遷延化に関与することが示唆されている。また本研究結果から、PACAP は末梢神経障害性疼痛に伴う不安・うつ様行動の発症にも関与することが示唆され、少なくとも不安様行動発症には PAC1 受容体の関与が窺われた。不安様行動発症には、脊髄－腕傍核－扁桃体路や脊髄－腕傍核－分界条床核－視床下部室傍核路の重要性が近年示唆されているが、PACAP 情報伝達系がどのように関与するか、今後より詳細な検討を加えていく予定である。

# P-17 視床下部由来の培養神経細胞における チロシンキナーゼ Pyk2 の活性化機構

○間 妃向子、仲嶺 三代美、澳津 志帆、金城 渉、新川 慎之助、桑江 一希、山本 秀幸
琉球大学大学院医学研究科 生化学講座

Pyk2（proline-rich tyrosine kinase2）は非受容体型チロシンキナーゼであり、神経細胞ではシナプス機能に関与することが報告されている。私達は、マウス視床下部由来の培養神経細胞（GT1-7細胞）を用いて、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）受容体刺激後に、Pyk2の402、579、580番目のチロシン残基（Y402、Y579、Y580）がリン酸化されて活性化されることを見出した。この活性化にはFynとprotein kinase D1が関与することも見出している。今回、Pyk2の変異体を作製し、これらのリン酸化の分子機構について検討した。さらに、FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa（FIP200）がPyk2の活性化に関与する可能性を検討した。

Flag融合型のPyk2（Y402F）、Pyk2（Y579/580F）、Pyk2（KD：Y579/580F）を作製した。GT1-7細胞に野生型Pyk2を過剰発現させると、GnRH非存在下でもY402とY579がリン酸化された。Y402とY579のリン酸化は、それぞれ、Pyk2とFynの阻害剤で強く抑制された。さらに、共免疫沈降実験により、Pyk2とFynとの結合が検出された。次に、Pyk2（Y402F）を過剰発現させ、抗Flag抗体を用いた共免疫沈降実験を行った。その結果、変異体と、Y402がリン酸化された内在性のPyk2との結合が認められ、Pyk2が多量体を形成することが示唆された。次に、Pyk2（KD：Y579/580F）のみの過剰発現ではY402とY579/580のリン酸化は認められなかったのに対し、Pyk2（Y402F）との共発現では、これらのリン酸化が認められた。さらに、Pyk2とFIP200の過剰発現後の抗Flag抗体による共免疫沈降実験により、Pyk2とFIP200との結合が認められた。この結合は、GnRH処理によって抑制された。以上の結果から、Pyk2とFIP200は結合しており、GnRH処理によってPyk2がFIP200から離れて多量体を形成し、Y402を自己リン酸化する。そして、リン酸化Y402にFynが結合し、FynによりY579/580がリン酸化されると考えられた。

# P-18 軟らかい細胞外環境はマクロファージの炎症性分化を抑制する

○岡本 貴行、臼田 春樹、田中 徹也、和田 孝一郎
島根大学 医学部 薬理学講座

**【目的】**細胞は、細胞外環境の力学的性質（硬さ・弾性）を感知して細胞の分化、増殖、走化性などを調節する。この性質により細胞外環境の硬さに応じて発生や病態形成に関与する。血管は動脈硬化病変の進行とともに血管組織を硬化し、この動脈硬化は心血管イベントの発症リスク因子と相関を示す。すなわち、血管の硬化が血管機能障害の発生に繋がることを示唆する。しかし、血管組織の硬さに起因する細胞機能変化は明らかでない。単球やマクロファージは炎症血管部位に浸潤し、分化や増殖を介して動脈硬化病変の形成を行う重要な細胞である。本研究では、動脈硬化病変の硬さが病態形成に及ぼす影響を理解するために、異なる硬さの細胞外環境下でのマクロファージの炎症性分化を解析した。

**【方法】**人工的な細胞外基質としてアガロースゲルを利用し、その硬さは原子間力顕微鏡を用いて測定し、正常血管と同等であることを確認した。ヒト単球性白血病細胞株THP-1細胞をゲル上で培養し、M1マクロファージ分化誘導刺激を加えた後、M1またはM2マクロファージ分化マーカーの発現をフローサイトメトリー法で解析し、サイトカイン及び転写因子のmRNA発現を定量的PCR法で測定した。

**【結果・考察】**M1マクロファージ分化誘導刺激を加えた際、ゲル（軟基質）上で培養したTHP-1細胞では、培養シャーレ（硬基質）上で培養した場合と比較して、M1マクロファージマーカーCD64発現、M1マクロファージに特徴的なサイトカイン、転写因子の発現が抑制され、血管内皮細胞増殖因子とM2マクロファージへの分化を促進するPPAR γの発現が亢進していた。これらのことから軟基質上ではM1分化が抑制され、M2分化が亢進されることが示された。

**【結論】**正常の軟らかい血管ではマクロファージは抗炎症性を維持するが、硬化した血管ではマクロファージの炎症性分化が亢進し、動脈硬化病変形成を促進する可能性が示唆された。

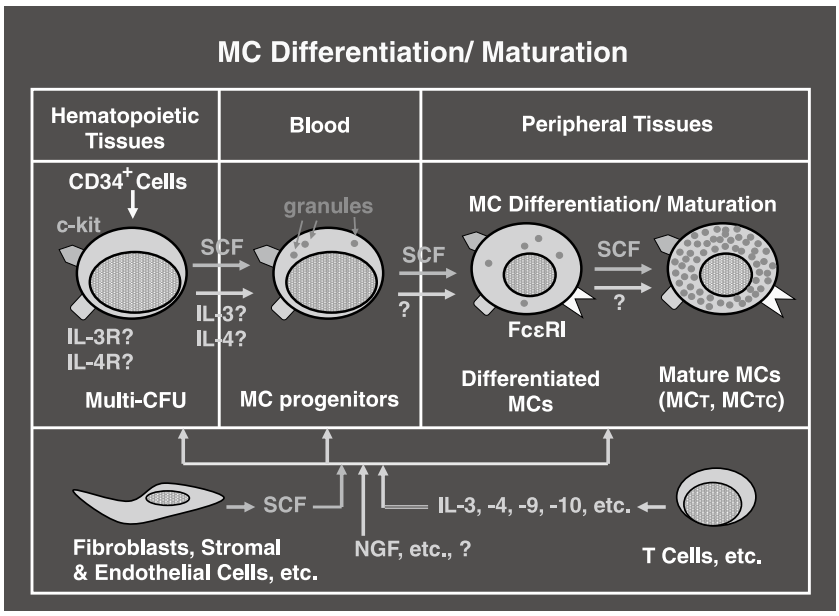
# P-19 ラットの胎生期および新生児期における マスト細胞の発生

○田中 徹也、新林 友美、臼田 春樹、岡本 貴行、和田 孝一郎
島根大学 医学部 薬理学講座

マスト細胞は骨髄由来の幹細胞から前駆体の形で組織に移行し、組織において成熟マスト細胞に分化するとされている（Fig）。しかしながら、個体発生初期段階におけるマスト細胞およびマスト細胞前駆体の分布ならびにその発生機序は解明されていない。本研究では、妊娠ラットから胎齢9.5、11.5、13.5、15.5、18.5日の胎児、および出生後1、3、14日の新生児を獲得し、全胚または各組織から mRNA を精製し、図中のマスト細胞関連分子と、発生期の血管新生マーカーの VEGF（Vascular endothelial growth factor）、免疫炎症関連サイトカインの TNFαを選択し、それぞれのプライマーを用いて RT-PCR を行うことにより、マスト細胞の発生時期および局在性を検討した。

その結果、c-kit は胎児血流の認められない胎齢9.5日から継続して発現していた。rMCP-I は胎齢11.5日の卵黄嚢で一過的に発現したのち周産期から新生児期にかけて発現が増加し、rMC-CPA は胎齢15.5日以降の胎児・新生児で発現が認められた。このことは、マスト細胞は胎生期を含めた発生の初期段階から特定の組織で成熟型として存在することを示している。新生児期では rMCP-I・rMC-CPA とも主要臓器よりも皮膚と筋肉組織での発現量が高く、マスト細胞は新生児が接触する外部環境からの個体の保護に何らかの役割を担っていることが想起された。

胎生期、新生児期のマスト細胞の局在発現やその機能は不明な点が多いが、この時期におけるマスト細胞の発生異常は生育後の疾病の発症に関与することが予想される。正常状態でのマスト細胞の発生時期・分布を解析した本研究は、今後のモデル動物を使用した疾病とマスト細胞の関連性を調査する研究に必要不可欠なものとなる。




Fig

# P-20 ヒト有害事象自発報告データベースを利用した治療薬のクラスタリング

○西村 有平、新川 龍太郎、鈴村 祐矢、山田 大智、森口 貴文
三重大学 医学部 統合薬理学

治療薬は薬理作用や適応疾患を基準として分類されることが多いが、近年では、治療薬の副作用情報を利用して、治療薬の新たな分類が可能であることが注目されている。本研究では、アメリカ食品医薬品局が公開しているヒト有害事象自発報告データベース（US FDA Adverse Event Reporting System；FAERS）を利用して、治療薬のクラスタリングを試みた。2018年に登録されたFAERSデータにおける全ての治療薬の適応疾患の情報から各治療薬の空間ベクトルを生成し、密度準拠クラスタリングを用いて治療薬を54種類のグループに分類した。治療薬の副作用情報も利用して同様のクラスタリングを行い、52種類のグループに分類した。これらの2つのクラスタリングには、45セットの治療薬群が共通していた。このうち、複数のセットにおいて適応や副作用が異なる治療薬が含まれていた。これらの結果は、ヒト有害事象自発報告データベースを利用した治療薬のクラスタリングが、治療薬間の新たな類似性を見出し、既存の治療薬の適応拡大に有用な手法である可能性を示唆している。

# P-21 肥満ラットにおける心房細動の検討

○澤野 達哉[1)]、三明 淳一朗[1)]、岡村 昌宏[2)]、友森 匠也[2)]、高見 亜衣子[2)]、周 余航[1)]、市原 克則[1)]、山本 一博[2)]、今村 武史[1)]

1）鳥取大学 医学部 病態解析学講座 薬理学・薬物療法学分野

2）鳥取大学 医学部 統合内科医学講座 病態情報内科学分野

**【背景・目的】**心房細動は、最も頻繁にみられる頻脈性不整脈であり、脳梗塞や心不全のリスクとなる。心房細動の発症と肥満が関連することが知られているが、詳細な機序はまだ明らかとなっていない。本研究では、肥満による心房細動の発症メカニズム解析、治療薬探索を目的として、食餌負荷性肥満モデルラットを用いた検討を行った。

**【方法】**8週齢雄性 Sprague-Dawley ラットを用いて、高脂肪食 +30% フルクトース溶液（HFFr）を与えた負荷個体と、通常食＋水（NCD）を与えた対照個体に分け、12週間自由に摂取させた。12週間後に生化学検査、心房細動誘発試験、心血行動態評価、経胸壁心臓超音波検査および心拍変動解析を行った。

**【結果】**HFFr 負荷個体は、有意な体重増加を示した肥満群と、対照群同様の体重を示した非肥満群に分類した。生化学検査では、腎機能（BUN、CRE）、肝機能（AST、ALT）の悪化は認められず、肥満群においてのみ中性脂肪、総コレステロールの増加を認めた。経食道心房ペーシングによる心房細動誘発試験では、対照群、非肥満群と比較して、肥満群においてのみ有意な増大を確認した。心血行動態評価の結果、左室収縮末期圧、左室拡張末期圧、心拍数は肥満群においてのみ増大上昇傾向を示し、経胸壁心臓超音波検査では、FS、EF および E/A に有意差は認められなかった。心拍変動解析では、対照動物と比較すると交感神経活性の指標である LF/HF は HFFr 負荷により減少傾向を示した。

**【考察】**以上の結果から、HFFr 負荷による心房細動の誘発率の上昇は心臓の収縮能および拡張能の変化や交感神経活性の亢進ではなく、肥満由来因子によるものであることが示唆された。今後、肥満由来因子の同定および心房細動の発症機序解明を進める。

# P-22 新規病因蛋白セレノプロテインＰによる肺高血圧症促進機構の解明と治療ターゲット、バイオマーカーとしての応用

○菊地 順裕
東北大学 大学院医学系研究科 循環器内科学

**【背景】**肺動脈性肺高血圧症（PAH）は肺微小血管のびまん性壁肥厚・狭小化（肺血管リモデリング）を主病態にもつ致死性疾患であり、その特異的治療薬の開発が急務である。セレノプロテインＰ（SeP）は、肝臓やPASMCsを含む全身の諸組織において産生・分泌される血中蛋白である。現在までにSePがPAHの病態において果たす役割は未解明であり、その治療ターゲットとしての可能性も明らかではない。

**【方法と結果】**健常者由来肺動脈平滑筋細胞とPAH由来肺動脈平滑筋細胞（PAH-PASMCs）に対する網羅的遺伝子発現評価とバイオインフォマティクスを用いた機能解析を行い、PAH-PASMCsにおけるSeP遺伝子発現の著しい上昇（SeP＞32倍、P＜0.01）を発見した。患者由来組織を用いた検討により、PAH病変の首座の一つと考えられる末梢肺動脈中膜にSeP蛋白発現を認めると同時に、PAH-PASMCsにおけるSeP蛋白発現の亢進を認め、さらに血中SeP濃度測定の結果、健常者（n＝21）に比して肺高血圧症患者（n＝192）において血中SeP濃度の上昇を認め（7.3倍、P＜0.01）、血中SeP高値が長期生命予後を予測することを示した。計5種の組織特異的SeP遺伝子改変動物を用いた解析により、肺血管平滑筋細胞におけるSeP発現が肺高血圧形成に重要であることを示した。また、PASMCsに対するヒト精製SeP刺激、siRNAによるSePノックダウンやプラスミド導入によるSeP過剰発現によって、SePがPAH-PASMCsの細胞増殖を促進することを示し、その機序としてPAH-PASMCsにおけるミトコンドリアエネルギー代謝障害、細胞内グルタチオンの減少とこれに伴うNADPHオキシダーゼ由来の酸化ストレス亢進が引き起こされることを示した。最後に、既存薬3,336種からなる化合物ライブラリーに対するハイスループットスクリーニングによってSeP抑制化合物サンギナリンを見出し、サンギナリンがPAH-PASMCsの増殖を抑制し、複数の肺高血圧モデル動物に対して肺高血圧抑制、右心機能改善、運動耐用能改善効果を有することを示した（Circulation 2018, 2019）。

**【結論】**SePは肺動脈平滑筋細胞増殖を促すPAHの新規病因蛋白であり、創薬ターゲットとして有望であるとともに、血中SeP濃度はPAHの診断と予後評価における有用な新規バイオマーカーとなり得る。

# P-23 低酸素誘発肺高血圧発症における血管平滑筋 NCX1 を介した $Ca^{2+}$ シグナル異常の関与

○田頭 秀章[1)]、永田 旭[1)]、喜多 紗斗美[1)2)]、喜多 知[1)]、岩本 隆宏[1)]
1）福岡大学 医学部 薬理学
2）徳島文理大学 薬学部 薬理学

肺高血圧症は肺動脈圧の上昇と、それに引き続く右心不全を引き起こす予後不良な疾患群である。近年、$Ca^{2+}$ 制御異常による肺動脈平滑筋細胞の過収縮や増生が肺高血圧発症に関与することが示唆されているが、その詳細な $Ca^{2+}$ シグナル機序は不明である。我々は、その分子機序を解明する目的で、低酸素誘発肺高血圧症における血管平滑筋 NCX1（1型 $Na^{+}/Ca^{2+}$ 交換体）の役割について検討した。野生型マウス（WT）を4週間低酸素飼育すると、肺動脈平滑筋における HIF-1a および NCX1 の発現増加とともに、右室収縮期圧（RVSP）の上昇および肺血管筋性化が観察された。血管平滑筋特異的 NCX1 高発現マウスの低酸素飼育では、RVSP の上昇および肺血管筋性化の顕著な促進など、低酸素誘発肺高血圧症の増悪がみられた。一方、血管平滑筋特異的 NCX1 欠損マウスおよび NCX1 阻害薬を投与した WT では、RVSP の上昇および肺血管筋性化が有意に抑制された。また、興味深いことに、ヒト肺動脈性肺高血圧症類似の疾患モデルラットの肺組織を病理解析したところ、特徴的な新生内膜や叢状病変部に NCX1 が高発現していた。また、低酸素培養したヒト肺動脈平滑筋細胞ではエンドセリン -1 刺激時の $Ca^{2+}$ 動員が有意に増大しており、この増大反応は NCX1 阻害薬により抑制された。これらの結果は、血管平滑筋 NCX1 を介した肺動脈平滑筋細胞の $Ca^{2+}$ シグナル異常が低酸素誘発肺高血圧の発症に関与することを示唆している。

# P-24 組織特異的 TRPM7DN 変異体高発現マウスの特性解析

○喜多 知[1)]、田頭 秀章[1)]、喜多 紗斗美[1)2)]、岩本 隆宏[1)]
1）福岡大学 医学部 薬理学
2）徳島文理大学 薬学部 薬理学

マグネシウムイオン（$Mg^{2+}$）は、加水分解酵素やリン酸化酵素の活性調節および細胞膜のイオン輸送制御に関与することが知られており、生体にとって重要な必須元素である。生体内 $Mg^{2+}$ 濃度は、様々な $Mg^{2+}$ 輸送体によって調節されており、$Mg^{2+}$ 輸送体の機能破綻は心血管疾患、神経筋疾患などの発症機序に関わると考えられている。我々は、近年同定された各種 $Mg^{2+}$ 輸送体候補の in vivo 機能解析を目的として、これらを標的とした遺伝子改変マウスを作出している。今回、$Mg^{2+}$ 透過性陽イオンチャネルである TRPM6/7 を標的とした解析結果について報告する。まず、研究ツールとして、TRPM7 のイオン透過孔領域の E1047A/E1052A 変異体を TRPM7 ドミナントネガティブ変異体（TRPM7DN）として構築した。野生型 TRPM7 に対する TRPM7DN の機能抑制効果は、HEK293 細胞共発現系を用いた whole-cell patch clamp 法により実験的に検証した。さらに、TRPM7DN は、TRPM7 に高い相同性を持つ TRPM6 の野生型に対する機能抑制効果を示すことも確認した。従って、TRPM7DN は TRPM6/7 機能抑制に有用な研究ツールであると考えられた。次に、in vivo 機能解析を実施するため、腎尿細管特異的 TRPM7DN 高発現マウスを作製したところ、尿中 $Mg^{2+}$ 排泄量の増加および血中 $Mg^{2+}$ 濃度の低下が認められた。興味深いことに、このマウスの摘出大動脈標本においてフェニレフリン（PE）誘発血管収縮反応の減弱が観察されたが、高 Mg 食の 4 週間摂取によりその血管収縮反応は正常化された。一方、血管平滑筋特異的 TRPM7DN 高発現マウスを作製したところ、尿中 $Mg^{2+}$ 排泄量および血中 $Mg^{2+}$ 濃度は変化しなかったが、PE 誘発血管収縮反応の減弱が観察された。これらの結果は、腎尿細管および血管平滑筋において TRPM6/7 は生理的に重要な $Mg^{2+}$ 輸送体であることを示唆している。本研究の組織特異的 TRPM6/7 機能抑制モデルマウスは、$Mg^{2+}$ 代謝異常に基づく心血管病態機序の in vivo 解析に有用な研究ツールと考えられる。

# P-25 The Association of Peroxiredoxin 4 with the Initiation and Progression of Hepatocellular Carcinoma

○郭 シン、張 ジン、塩谷 晃弘、熊谷 泉那、水谷 謙一、黒瀬 望、山田 壮亮
金沢医科大学 医学部 臨床病理学講座

Peroxiredoxin 4 (PRDX4) is recently identified as a unique and secreted anti-oxidative protein. In our serial studies, we have investigated the critical in vivo role of PRDX4 in the prevention of metabolic syndrome, and especially found that, in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), PRDX4 can reduce the levels of hepatic and circulatory reactive oxygen species (ROS), resulting in protection against the progression of NAFLD.In this context, we hypothesized that PRDX4 can similarly protect against the progression of hepatocellular carcinoma (HCC). Our aim is to investigate the role of PRDX4 in the progression of HCC. In this study, through DEN-induced hepatocarcinogenesis in PRDX4 genovariation mice, immunohistochemistry (IHC) staining of PRDX4 in human HCC tissues, and PRDX4 small interfering RNAs (siRNAs) transfection to human HCC cell lines, we investigated the role of PRDX4 in the initiation and progression of HCC. The HCC incidence was higher in PRDX4-/y mice than in WT or hPRDX4+/+ mice. Intrahepatic and circulating oxidative stress and inflammatory cell infiltration in the liver were obviously decreased in hPRDX4+/+ mice, compared to WT mice. In our cohort study, human HCC specimens with low expression of PRDX4 had higher ROS levels and a highly malignant phenotype, which was associated with a reduced overall survival, compared to those with high PRDX4 expression. However, in human HCC cell lines, PRDX4 knockdown led to a rapidly increased intracellular ROS level and suppressed cell proliferation, inducing cell death. Our present data indicate that PRDX4 can restrain DEN-induced hepatocarcinogenesis in mice by reducing intrahepatic and circulating oxidative stress, as well as the inflammation response in the liver. However, due to the contradictory property of ROS, PRDX4 plays a dual role in the progression of HCC, promoting the survival of cancer cells but inhibiting the rapid growth and invasion of tumor.

# P-26 がん治療における choline transporter-like protein 1（CTL1）を標的とした新規化合物の抗腫瘍効果

○平井 花歩[1)]、渡邊 才一郎[1)]、西島 希[1)]、柴田 薫[1)]、長谷 紅音[1)]、儀同 りこ[1)]、山中 力[2)]、稲津 正人[1)2)]

1）東京医科大学 医学総合研究所
2）東京医科大学 医学総合研究所 分子予防医学寄付講座

コリンは、全ての細胞にとって重要な役割を果たすバイオファクターの一つである。コリンは細胞内に取り込まれた後、生体にとって必要な分子へと代謝され、様々な生理機能に関与することが知られている。従って、コリンを利用するためには細胞内に取り込む必要があり、細胞膜を通過するにはトランスポーターを介する必要がある。画像診断技術の向上により、現在ではコリン -PET により各臓器におけるコリンの集積を観察することが可能となり、それにより様々な腫瘍においてコリン取り込みが報告されている。がん細胞における異常なコリン代謝は悪性腫瘍の進行を悪化させ、様々ながん種で choline transporter-like protein 1（CTL1/SLC44A1）が高発現していることが確認されている。CTL1を介したコリン取り込みは細胞生存に関わり、CTL1を阻害することでアポトーシスによる細胞死を誘導する。CTL1を介したコリン輸送システムは、新たながん治療のターゲットとなることが明らかになった。CTL1を阻害する化合物を探索した結果、新規化合物を2化合物見出すことができた。新規化合物は様々ながん細胞において、その細胞生存を抑制した。本研究では、すい臓がん細胞である MIA PaCa-2細胞を用いて、コリン取り込み阻害作用および細胞死誘導の機序の検証を行った。新規化合物は MIA PaCa-2細胞において、濃度、時間依存的に細胞生存を抑制し、さらに caspase-3/7活性を上昇させた。コリン取り込みを阻害すると細胞膜構成成分のリン脂質合成が抑制されるが、細胞増殖の盛んながん細胞は細胞膜のスフィンゴミエリンを分解してリン脂質合成を維持して細胞増殖を行おうとする。この時、アポトーシス誘導分子であるセラミドが生成して細胞死を誘導すると考えられる。新規化合物は、スフィンゴミエリンからセラミドを合成する酵素である SMPD4の発現を上昇させた。また、膜透過性セラミドは細胞生存を抑制し、caspase-3/7活性を上昇させた。このことから化合物はコリン取り込み阻害を介してセラミドの細胞内濃度を上昇させ、アポトーシスを誘導したと考えられる。化合物は、ヒトがん細胞異種移植モデルマウスにおいて、腫瘍の増殖を抑制した。また、腫瘍組織は正常組織と比較し CTL1の発現量が非常に高度であったが、化合物の投与により CTL1の発現が正常組織と同程度まで抑制された。よって、化合物は CTL1を標的とした新規治療メカニズムを有するリード化合物である。

# P-27 抗がん剤誘発神経障害性疼痛に関連する細胞内シグナル分子の解析

○根本 隆行[1)3)]、丸田 豊明[2)]、武谷 立[3)]、恒吉 勇男[2)]、岩本 隆宏[1)]
1）福岡大学 医学部 薬理学
2）宮崎大学医学部附属病院 麻酔科
3）宮崎大学 医学部 機能制御学講座 薬理学分野

白金系抗がん剤オキサリプラチンは、急性低温知覚過敏、慢性疼痛、しびれ等の末梢神経障害を高頻度で誘発し、身体的苦痛から患者のQOLを著しく低下させるだけでなく、がん治療の変更や中止を余儀なくさせることから臨床上大きな問題となっている。オキサリプラチンは、感覚神経を中継する脊髄後根神経節（DRG）に蓄積し、細胞体だけでなくDRG付随神経線維を変性させることが知られているが、その発症機序は依然として不明である。そこで我々は、オキサリプラチン誘発神経障害性疼痛モデルラットを作製して、その発症機序について検討した。雄性SDラットにオキサリプラチン（4 mg/kg）を腹腔内投与（週2回、4週間）することで神経障害性疼痛モデルを作製した。本モデルは機械的アロディニア（非侵害刺激に対する痛覚過敏）を生じることから、機械性非侵害刺激に対する疼痛逃避反応をvon Freyテストにより評価した。また、神経障害性疼痛に関連する細胞内シグナル分子を同定するために、第4-6腰髄DRGを採取し、関連シグナル分子の蛋白質発現レベルならびにリン酸化レベルをウエスタンブロットにより検討した。オキサリプラチン投与を開始して3週目以降において、von Freyテストによる逃避反応閾値は対照群と比較して有意に低下した。この3週目以降をオキサリプラチン誘発神経障害性疼痛モデルと位置づけ、変動シグナル分子の解析を行った。その結果、本モデルのDRGにおいて細胞内シグナル分子ERKのリン酸化が増加していることを見出した。神経障害性疼痛にはMAP kinaseの主要3経路（ERK、p38、JNK）の関与が推察されているが、本研究結果はオキサリプラチン誘発障害性疼痛にERKの経路が主に関わっていることを示唆している。

# P-28 新規の抗 HIV 治療薬の尿細管細胞への障害性と有機酸トランスポーターとの相互作用

○安西 尚彦[1)]、金子 明夏[1)]、霊園 良恵[1)]、鍬田 伸好[2)]、満屋 裕明[2)]
1）千葉大学大学院 医学研究院 薬理学
2）国立国際医療研究センター研究所 難治性ウイルス感染症研究部

**【背景】** EFdA（4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine）は新規の抗 HIV 治療薬である。核酸アナログに分類され、ユニークな構造と高い抗ウイルス活性を持ち、画期的な新薬として期待されている。一方、TDF（Tenofovir disoproxil fumarate）、TAF（Tenofovir alafenamide）は既に臨床応用されている核酸アナログであるが、TDF は長期投与において腎障害を起こすことが知られている。hOAT1, hOAT3は腎臓の近位尿細管血管側に発現する有機酸トランスポーターで、薬物の尿細管分泌の際の細胞内への取り込み経路として働いている。薬物による腎障害発症機序の一つとして、これらのトランスポーターを介して近位尿細管細胞に取り込まれた薬物が、細胞内に蓄積することによって障害を引き起こすことが考えられている。本研究では、EFdA の腎尿細管細胞への影響とトランスポーターを介して同細胞に取り込まれる可能性について検討した。

**【方法】** マウス近位尿細管由来の S2細胞、遠位尿細管由来 cTAL 細胞、集合管由来 CCD 細胞を用いて cell viability assay を行った。また hOAT1および hOAT3を安定発現した細胞（S2-hOAT1, S2-hOAT3）を用いて、化合物がそれぞれの代表的基質 PAH（hOAT1）および Estrone sulfate（hOAT3）取り込みに与える影響を調べた。

**【結果】** Cell viability assay では4時間後にはいずれの薬剤でも変化がみられなかったが、72時間後では EFdA, TDF, TAF すべての薬剤で細胞増殖抑制がみられた。しかしいずれの化合物も S2-hOAT1細胞および S2-hOAT3細胞では S2-mock に比べてそれぞれ代表的基質の取込み増加がみられたが、化合物による基質の取込み抑制はみられなかった。

**【考察】** EFdA は、TDF, TAF と同程度に近位尿細管細胞に対し障害性を出しうる。しかし、他の報告によると EFdA は非常に低い濃度で高い抗ウイルス活性を示すことがわかっており、実臨床では腎障害を起こすほどに血中濃度が高くなる可能性は低いと考えられる。EFdA, TDF, TAF の近位尿細管細胞に対する障害性には、これらの薬剤は hOAT1, hOAT3を介して細胞内に取り込まれる可能性は低く、hOAT1, hOAT3の関与は低いと考えられた。

# P-29 抗血小板薬・シロスタゾールがモノアミントランスポーター機能に及ぼす影響

○伊藤 英明[1)2)]
1）産業医科大学 リハビリテーション医学講座
2）産業医科大学 薬理学講座

**【目的】**脳卒中後遺症として抑うつ状態や自発性の低下を主体としたアパシーなど遷延性気分障害を呈することがある。脳卒中後うつの発症頻度は報告により異なるが15-60%と報告されている。「脳卒中ガイドライン」によれば、うつ状態に対して早期に抗うつ薬を開始することが推奨されているが、過剰な投与は眠気などを引き起こし、リハビリの阻害因子ともなりうるので十分配慮する必要がある。アパシーなどの遷延性気分障害に対しては抗うつ薬の他に抗血小板薬であるシロスタゾールも挙げられているが、その効果や作用機序については明らかでない。そこで今回、抗うつ薬の標的蛋白であるノルエピネフリントランスポーター（NET）およびセロトニントランスポーター（SERT）に及ぼす作用と機序について細胞レベルの実験系を用いて検討した。

**【方法】**シロスタゾールがノルエピネフリントランスポーターに及ぼす影響について、ヒト神経芽細胞腫培養細胞由来のSK-N-SH細胞をシロスタゾールおよびアイソトープ（[3H]）でラベルしたノルエピネフリンと10分間反応させ細胞内への取り込みをシンチレーションカウンターを使用して測定した。シロスタゾールがセロトニントランスポーターに及ぼす影響については、アフリカミドリザルの腎臓由来細胞であるCOS-7細胞にセロトニントランスポーターを遺伝子導入（Effectene Transfection）した後、シロスタゾールとアイソトープ（[3H]）でラベルしたセロトニンと10分間反応させ、細胞内への取り込みをシンチレーションカウンターを用いて測定した。

**【結果】**シロスタゾールはSK-N-SH細胞において、ノルエピネフリン取り込みを濃度依存的に抑制した。シロスタゾール100 mgを1回経口投与した後の最大血中濃度（Cmax）は13.8 μM（1.2 μg/mℓ）と報告されており、有効血中濃度にて有意にノルエピネフリン取り込みを抑制することが示唆された。またセロトニントランスポーターを遺伝子導入したCOS-7細胞においても、濃度依存的にセロトニン取り込みを抑制した。

**【考察】**抗血小板薬・シロスタゾールは濃度依存性にノルエピネフリントランスポーター機能およびセロトニントランスポーター機能を抑制した。

# P-30 腎性貧血モデルマウスにおける PHD 阻害薬 modulistat の効果

○中野 大介[1)]、Li Lei[1)]、大崎 博之[2)]、西山 成[1)]
1）香川大学 医学部 薬理学講座
2）神戸大学大学院 保健学研究科 病態解析学領域

**【背景・目的】**エリスロポエチン（EPO）は造血に必須のホルモンである。生体においては腎臓で産生されるため、慢性腎臓病では EPO 産生が低下し貧血が生じる。Hypoxia-inducible factor は EPO 産生細胞において EPO 転写調節に重要な役割を担っており、Hypoxia-inducible factor を活性化させる prolyl hydroxylase domain-containing protein（PHD）阻害薬が貧血治療薬として期待されている。本試験では、PHD 阻害薬である modulistat の慢性腎臓病マウスモデルに対する効果を検証した。

**【方法】**アデニン経口投与により腎障害を誘導した。溶媒（carboxymethyl cellulose）あるいは Modulistat（3 mg/kg/day, p.o.）を腎不全発症後から 4 週間投与した。

**【結果】**実験終了時において、溶媒投与群では顕著な貧血（ヘマトクリット 28.5 ± 1.0%）が生じており、modulistat 投与群では有意な改善が確認できた（44.3 ± 1.4%）。溶媒群では実験終了時において、クレアチニンクリアランスの低下、多尿、血中尿素窒素の上昇、組織学的障害の進行、腎 CD8 陽性細胞浸潤および脱水が生じていた。Modulistat により、クレアチニンクリアランス、多尿、血中尿素窒素および組織学的障害には影響は観られなかったが、腎免疫細胞浸潤および脱水は緩解された。体重に群間差は観られなかった。

**【結論】**重度腎障害モデルであるアデニン誘導性腎障害マウスモデルにおいて、modulistat は貧血を改善した。CD8 陽性 T 細胞浸潤および脱水も改善していたが、腎機能には影響は確認できなかった。

# P-31 島根県の住民における口腔内高病原性の保菌状況（年齢および性別での差異についての検討）

○臼田 春樹[1)]、郡司 位秀[2)]、大町 健介[2)]、松浦 良二[2)]、前田 憲邦[2)]、佐々木 良二[2)]、藤江 徹[2)]、朝比奈 圭[2)]、澄川 裕之[2)]、金築 剛[2)]、三上 隆浩[2)]、中村 元裕[2)]、比良田 知典[2)]、田中 雅彦[2)]、齋藤 誠[1)2)]、田中 延仁[1)2)]、青木 誠[2)]、吉川 浩郎[2)]、佐原 美鈴[2)]、富永 一道[2)]、新林 友美[1)]、Kazi Helal Hossain[1)]、Israt Jahan[1)]、田中 徹也[1)]、岡本 貴行[1)]、和田 孝一郎[1)]、渡邊 公人[2)]

1）島根大学 医学部 薬理学講座

2）島根県歯科医師会

**【背景】**口腔内細菌には歯周病やう蝕の原因となる菌種がおり、それらが口腔内の疾患のみならず、全身疾患にも寄与することが判明してきている。したがって、口腔内高病原性細菌の保菌状況を把握することは疾患の予知や予防という観点から重要であると考えられる。しかしながら、口腔内細菌の保菌状況に関する疫学調査は乏しく、最も基礎的な内容である年齢や性別で保菌状況がどのように違うかということを大規模に調査して報告した例はない。

**【目的】**当講座では、島根県12の地域住民約2,000名を対象に、口腔内細菌の保菌状況に地域差がみられることを昨年の本学会で発表した。本研究では、同じ被験者の解析結果を用いて保菌の年齢による違いと性別による違いがあるのか否かを検証することを目的とし、検討を行った。

**【方法】**島根県内の東西12の地域の歯科受診者2,065名（男性：907名（67 ± 15.4歳）、女性：1,158名（59.46 ± 15.7歳））を被験者とした。被験者の口腔内を1.5 mLの滅菌蒸留水で30秒間洗浄したものを細菌サンプルとした。サンプルより細菌ゲノムDNAを抽出後、PCR法によって代表的歯周病菌、う蝕原因菌であるP.gingivalis（P.g）およびS.mutans（S.m）の保菌の判定を行った。また、P.gについては表面の線毛型（fim2, fim4, fim1b, fim1, fim3, fim5）をPCRで解析した。これらの菌の保菌と性別との関係を2×2表を用いた単変量解析で解析し、年齢と保菌との関連をCochran-Armitage検定にて解析した。さらに、細菌の保菌に及ぼす性別と年齢の影響を比較するために残存歯数と口腔清掃状態を交絡因子として多変量解析を行った。

**【結果】**P.g、S.mの保菌と性別との相関を2×2表で単量解析したところ、P.gの保菌率が女性で有意に低い結果となった（保菌率男性：72% vs 女性：66%）。S.mおよびP.gの線毛型について同様の解析をした結果、有意な相関は認められなかった。一方、年齢を階層別に分けて保菌率を比較したところ、P.g、S.mともに年齢が高くなるほど保菌率が高いという結果が得られた。P.gの線毛型についてはfim1, fim2, fim4, fim5の保菌率が年齢に比例して高くなる有意な傾向が認められた。多変量解析では、いずれの菌についても性別との有意な相関は否定されたが、P.gとfim1, fim2, fim4の保菌と年齢との間には交絡因子で補正してもなお正の相関が認められた。

**【結語】**島根県の住民では、P.gの保菌に年齢あるいは年代が与える影響が大きいことが示唆された。

# P-32 1980年に沖縄県の都市河川より分離された *Vibrio cholerae* O1の病原性に関する検討

○山城 哲[1)]、比嘉 直美[1)]、岩下 華子[1)]、竹村 太地郎[2)]、Nguyen Hai Tuan[3)]

1）琉球大学大学院医学研究科 細菌学講座
2）長崎大学熱帯医学研究所
3）ベトナム国立衛生疫学研究所

**【目的】**1980年に沖縄県内都市河川から *Vibrio cholerae* O1生物型El Tor（AJ株）が分離され、標準法でコレラ毒素（CT）の誘導を試みたが産生は認められなかった。今回、再度AJ株の毒素産生性を検討した。

**【方法】**Illumina HiSeqにてAJ株12株中5株のゲノム塩基配列を決定し、代表的コレラ菌株199株と1,763 core genesのSNPを用いた系統樹解析を行った。AKI switch（AKI-SW）法でCTを誘導した後精製・濃縮を行い、Western blotting法等でCTの分子量、抗原性を確認した。CT生物活性の検証のため、CHO細胞の伸長変形細胞数割合（CCEI）を算出し、特異的にCT生物活性を阻害するBFA（リン酸化阻害剤）および抗-CT抗体を用いてCT生物活性の抑制試験を併せて行った。

**【結果】**系統樹解析の結果、検討したAJ株5株の内、2株が1993年バングラデシュの臨床由来株と同じクラスターに入る事が確認された。AKI-SW法により誘導すると、AJ株12株中5株においてCTが50-400ng/mℓの範囲で培養上清中に分泌され、典型的な分子量、抗原性を有するAおよびBサブユニットで構成されるCTである事が確認された。陽性コントロールCTと同様に、5つのAJ株CT標品はCHO細胞をCCEI≥50%で伸長変形し、さらに代表的AJ株CT標品を用いた検討では、その変形はBFAおよび抗-CT抗体により特異的に抑制された。

**【考察】**1980年に沖縄県内都市河川から分離された *V. cholerae* O1生物型El Tor AJ株は、典型的なCTを分泌する病原性株であることが示唆された。1980年当時、沖縄県内都市河川で毒素産生性 *V. cholerae* O1が定着していた可能性があり注目に値する。近年、同河川における *V. cholerae* の分離を試みたので、その経過も併せて報告する。

P-33

# Environmental DNA (eDNA) analysis of pathogenic *Leptospira* and associated organisms in leptospirosis-endemic Okinawa areas

○佐藤 行人[1)]、水山 克[2)]、サトウ 恵[3)]、源 利文[4)]、木村 亮介[2)]、
トーマ クラウディア[2)]

1）琉球大学 戦略的研究プロジェクトセンター
2）琉球大学大学院医学研究科
3）新潟大学 医学部 保健学科
4）神戸大学大学院人間発達環境学研究科

About half of the species of bacterial genus *Leptospira*, which persist in soil and aquatic environments, cause the zoonotic disease "leptospirosis". Several factors, including rainfall, the presence of reservoir animals, and other bacteria interact to influence leptospiral survival, persistence, and pathogenicity in the environment. However, how these factors modulate the risk of infection is poorly understood. Here we developed an approach using environmental DNA (eDNA) metabarcoding for detecting the bacteriome, vertebrate animals, and pathogenic *Leptospira* in river water samples. We combined 4 sets of primers to generate PCR products of multiple amplicons for high-throughput sequencing. Using our method to analyze the eDNA of leptospirosis-endemic areas in northern Okinawa, Japan, we detected operating taxonomic units corresponding to pathogenic *Leptospira* (*L. alstonii*, *L. kmetyi*, and *L. interrogans*) directly from environmental water samples. In addition, the frequencies of 12 riverine bacteria correlated with *Leptospira* detection, and a part of them (*Sphingomonas* and Chlamydiae) was the species known to co-aggregate with *L. interrogans*. Furthermore, 10 vertebrates, including *Sus scrofa* (boar), *Pteropus dasymallus* (fruit bat), and *Cynops ensicauda* (sword-tail newt), showed high correlation with leptospiral eDNA detection. Our eDNA metabarcoding method would be a powerful tool for understanding the environmental phase of *Leptospira* and predicting human infection risk.

# P-34 シリマリン類のMIN6細胞における インスリン分泌に及ぼす影響

○豊平 由美子[1)]、坂巻 路可[2)]、石兼 真[1)]、高橋 富美[1)]
1）産業医科大学 医学部 薬理学講座
2）西南女学院大学 保健福祉学部 栄養学科

**【目的】**ポリフェノールは植物の色素や苦味の成分で、強い抗酸化力を持つことが示されている食品の機能性成分である。ポリフェノール化合物に属するフラボノリグナン類であるsilymarinはマリアアザミ（ミルクシスル（Milk thistle））種子の抽出成分の総称で、古くから肝疾患治療薬として民間療法に使用されてきた。Silymarinは主な活性成分としてsilybin（またはsilibinin）、silychristin, silydianinから構成されている。最も生物活性が高いsilybinは2型糖尿病患者においてインスリン抵抗性を改善し、血糖値を下げ、糖尿病の合併症の腎臓障害や網膜症の予防効果があることが報告されている。本研究では、ストレスに由来する生活習慣病の一つである2型糖尿病へのsilymarinの作用を検討する目的で、膵β細胞由来細胞株MIN6細胞におけるインスリン分泌への影響について検討した。

**【方法】**グルコース（0～40mM）やグリベンクラミド（1mM）でMIN6細胞を刺激し、分泌されたインスリンをELISA法にて定量した。グルコースやグリベンクラミドで刺激時の細胞内へ流入する$^{45}Ca^{2+}$を測定した。Glucose刺激時に細胞内へ流入する［$^{3}$H］-2-deoxy-D-glucoseを測定した。

**【結果】**Silymarin, silybin, silychristinはグルコース刺激によるインスリン分泌を抑制した。Silymarin, silybinはグルコース刺激によるインスリン分泌を濃度依存性に抑制した。グルコース刺激による細胞内への$Ca^{2+}$流入をシルビンは抑制したが、グリベンクラミド刺激による細胞内への$Ca^{2+}$流入は抑制されなかった。Silybinは細胞内へのグルコース取り込みを抑制した。

**【考察】**Silybinはグルコース取り込みを抑制して、細胞内へのCa流入を阻害し、インスリン分泌を抑制する可能性が示唆された。膵β細胞からのインスリン分泌を抑制する可能性があるので、インスリン分泌機能低下がある患者においては慎重に使用すべきではないかと考える。

# P-35 銅キレート剤のクプリゾンは高脂肪食による肥満に伴う体脂肪増加と耐糖能異常を抑制する

○市原 克則、澤野 達哉、周 余航、三明 淳一朗、今村 武史
鳥取大学 医学部 薬理学・薬物療法学分野

【背景】肥満・糖尿病患者は増加の一途をたどっており、メタボリックシンドロームおよびロコモティブシンドロームの観点から、骨格筋萎縮を伴うことなく体脂肪量を減少させる抗肥満薬の開発が期待されている。ヒト肥満および糖尿病患者では血清銅濃度の上昇が報告されている。しかしながら、銅への介入が肥満に伴う体脂肪量増加や耐糖能異常を制御しうるかは明らかではない。そこで、高脂肪食誘導性肥満マウスモデルを用いて、銅のキレート剤であるクプリゾンの効果を評価した。

【方法】クプリゾンは0.2wt%で食餌に混合し、マウスに投与した。8週齢雄性C57BL/6Jマウスに(1)普通食、(2)クプリゾン含有食、(3)高脂肪食、(4)クプリゾン含有高脂肪食のいずれかを4週間負荷した。

【結果】血清銅濃度は高脂肪食により上昇し、特に高脂肪食群でクプリゾンにより顕著に低下した。さらにクプリゾンは、摂食量に影響することなく、体重が特に高脂肪食群で顕著に減少した。この際、内臓脂肪量および皮下脂肪量が顕著に減少し、肝臓、腓腹筋およびヒラメ筋重量は変化しなかった。脂質代謝に関連し、高脂肪食下でクプリゾンは、肝臓の脂質取り込み関連遺伝子CD36、脂肪酸酸化関連遺伝子PGC-1alphaのmRNA発現量を増加、脂質合成関連遺伝子SREBP1c発現量を減少する傾向を示した。さらに、高脂肪食による耐糖能異常およびインスリン抵抗性の増悪は、クプリゾンにより抑制された。

【結論】クプリゾンは肝臓での脂質代謝を改善することで、高脂肪食による体脂肪増加と耐糖能異常を抑制する可能性が示唆された。

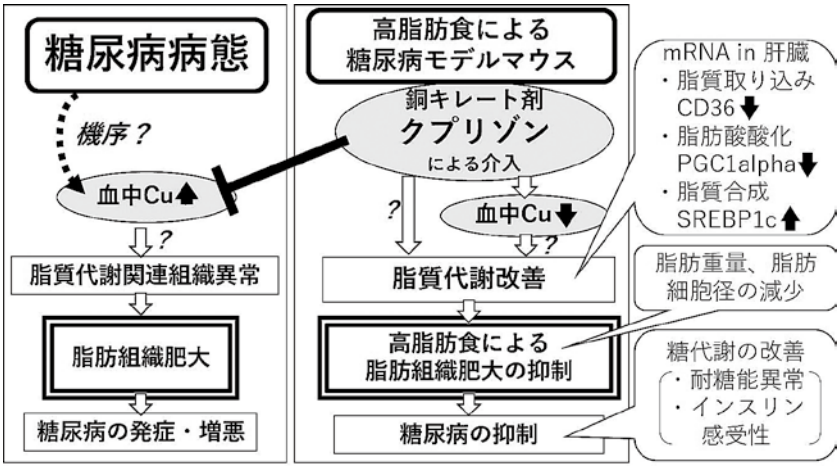



図1　研究の概略

# P-36 フルボ酸は、弱い脱共役剤である

○藤田 隆司、平嶋 力、青木 ナオ、青山 朋子
立命館大学 薬学部 分子薬効毒性学研究室

腐植物より生成する腐葉土にはフルボ酸が豊富に含まれる。これまで、フルボ酸は抗酸化作用や抗アレルギー作用を持つことが知られてきた。我々は、フルボ酸含有素材を用いた高脂肪食試験を行った結果、抗糖尿病・抗脂質異常・抗肥満効果を認めた。そこで、これらの作用機序を調べる目的で、細胞内代謝への影響を、flux analyzer を用いて調べた。検討の結果、フルボ酸単独で、弱い脱共役効果が観察され、フルボ酸とミネラルを混合すると、相乗的に脱共役作用が増強された。同様に、PPAR 活性をレポーター細胞を用いて測定すると、フルボ酸とミネラルは相乗的にレポーター活性を誘導した。またフルボ酸は、AMPK を活性化し、細胞内への糖取り込みを促進させた。以上のことから、フルボ酸の作用はミネラルにより増強され、脱共役作用によって抗生活習慣病作用を示すことが示唆された。

# P-37 イヤリング型非侵襲血糖値センサーを目指した皮膚表層近傍における微弱な反射光検出が可能な高感度中赤外分光法

○川嶋 なつみ[1)]、北崎 友哉[1)]、西山 成[2)]、和田 健司[2)]、石丸 伊知郎[1)]
1）香川大学 創造工学部
2）香川大学 医学部

物体面に視野絞りを有する空間的位相シフト干渉法の感度改善を目的とした、干渉鮮明度及び計測感度の向上を同時に実現するマルチスリット（回折格子）を提案する。我々はレンズ3枚からなる豆粒サイズまで小型化が可能なワンショットフーリエ分光法と、乾電池駆動が可能な超音波振動子による超音波アシスト法による、日常生活空間における血糖値モニタリングを可能にするイヤリング型非侵襲血糖値センサーの実現を目指している。ワンショットフーリエ分光法は、対物レンズと結像レンズ（シリンドリカルレンズ）の間に、平面ガラスと傾斜ガラスを組み合わせた相対傾斜位相シフターを導入しただけの極めてシンプルな構成である。1ラインの分光特性を1画像で取得することができるため時間分解能が高く、動きを伴う生体計測には適しているが、開口幅が一辺数十 $\mu$m 程度の視野絞りを使用しており光の利用効率が低いことから感度が課題であった。そこで、感度改善のため視野絞りの開口幅を広げ、視野絞りと対物レンズの間に物体光束径を大きくすることを目的とした平凹シリンドリカルレンズを挿入する、ビームエキスパンダー式高感度ワンショットフーリエ分光法を提案した。しかし、この手法では開口幅が大きくなることで入射する光量も多くなり感度の改善には成功したが、開口部に存在する輝点同士の干渉縞が半波長ずれて結像面上に形成された際、互いの明暗変化を打ち消し合い干渉鮮明度が劣化してしまう。そこで、結像面上での視野絞りの開口幅と遮光幅が干渉縞の半波長となるよう設計し、開口部を水平方向に並べることで光の入射面積を大きくした。これにより、位相が0次光から $\pi$ の偶数倍だけずれた波長のみで干渉縞を形成することとなるので、干渉鮮明度を維持することが可能となる。また、開口部を並べた数だけ入射光量が増えることから開口面積を合計した分だけ感度が向上し、明暗変化を強め合う波形だけ抽出しているため開口部の数の倍数だけ干渉鮮明度が向上する。この回折格子をマルチスリットと呼ぶこととする。この設計指標から製作したマルチスリットを使用して、白色光源であるメタルハライドランプとヘリウムネオンレーザーの分光計測を行った結果、感度と干渉鮮明度の向上を確認することができた。以上から、中赤外分光法は水分への吸収が顕著であるため生体計測は困難であるとされてきたが本手法により高感度計測が可能となった。

# P-38 ファインセラミックスを応用した赤外帯域レーザー励起材料の製造基礎－技術に関する研究

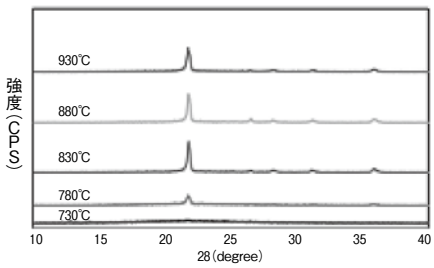
○深野 陽介[1)]、桃原 司[1)]、宮城 加津也[2)]
1）琉球大学 工学部 電気電子工学科
2）琉球大学 工学部 工学科 電子情報通信コース

近年、工学技術を医療分野へ応用することで、患者の負担軽減（低侵襲医療）を目的とする医療機器の研究開発が活発化している。特に、赤外帯域－レーザー光源の励起材料（セラミックスレーザー）の製造技術、レーザー（連続光－パルス光）発振状態の制御技術及び、画像処理技術に伴う患部や歯をレーザー切除・切削、または体内状態の画像診断技術など、光［レーザー］応用技術は多岐にわたり発展が著しい。

そこで本稿では、医療で用いる赤外帯域レーザーの（ファイン［透明］－セラミックス）励起材料の次世代－製造技術について述べる。具体的には、任意・複雑形状の透光性セラミックス焼結体を高い効率で製造する手法として、低温処理法［冷間等方圧加圧（CIP）処理と高真空（1.3＊10-3［Pa］）焼結を併用］構築し提案を行う。ここで焼結条件が不適切な場合、透光性セラミックス焼結体が結晶化（失透）し白濁化するため、焼結後に結晶相の評価を行う必要がある。その評価法として粉末X線回析装置（XRD）を用い、結晶化と焼結体条件（真空焼結時の温度、焼結時間と冷却法）の相関性について検証を行うことで、最適焼結（高緻密化・非結晶・高透光性）条件を示した。その相関結果から、透光性セラミックス焼結条件を決定し、焼結体の緻密化・非晶質化について検討を行った。

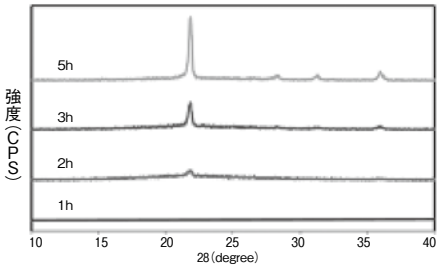
結晶化と焼結体条件（真空焼結時の温度、焼結時間と冷却法）の相関性

温度を変化させた際のXRDの結果



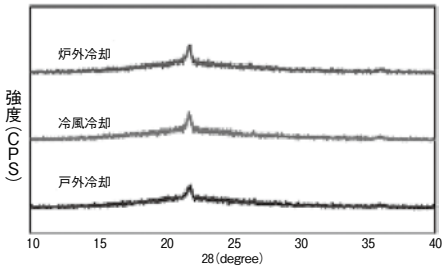

（1h, 5℃/min, 炉外冷却）

時間を変化させた際のXRDの結果




（730℃, 5℃/min, 炉外冷却）

冷却方法を変化させた際のXRDの結果




（730℃, 1h, 5℃/min）

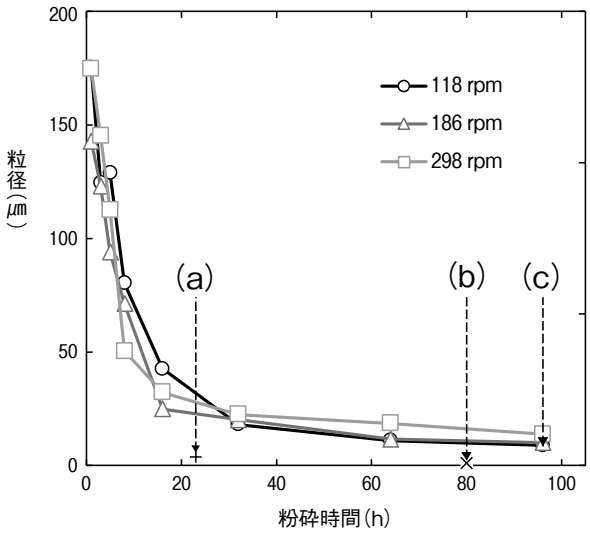
# P-39 改良型－ビーズミル粉砕機を用いた複合－石英材料の粉砕処理に関する研究

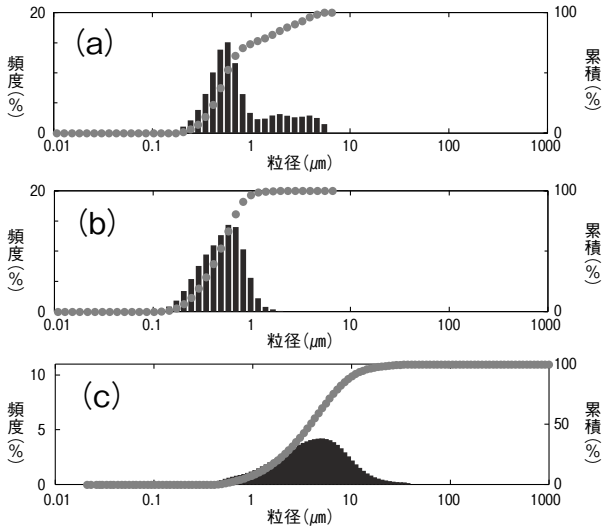
○桃原 司[1)]、深野 陽介[1)]、宮城 加津也[2)]
1）琉球大学 工学部 電気電子工学科
2）琉球大学 工学部 工学科 電子情報通信コース

材料の粉砕処理の研究開発の歴史は長く、これまで様々な粉砕処理条件の最適化が行われてきた。今日の材料開発において、粗－個体粒子（粒子径－数百 um）からサブミクロン（粒子径－数 um 以下）粉砕の処理は、様々な分野（医薬品・化粧品・ファインセラミックス）において高性能化や、次世代材料開発などに重要・不可欠な位置を占める。

特に、近年注目されている透光性セラミックス材料を用いた次世代－レーザ（励起）光源を応用した医工連携関連機器において、微細粉体を整形・焼結し製造できる新規－光デバイス（透光性をもちレーザー励起が可能な励起材料）を得るためには、石英－微粉体（数 nm、最適粒度分布かつ、低異物混入量）が高機能性と品質向上には重要な要素である。

本稿では、改良型－粉砕機を用いて（複合）石英材料の微粉砕条件を検討することで、その条件と測定結果（微粉体の粒径と粒度分布）の相関性の妥当性の検証を行った。粉砕機の構成を（①粉砕容器：複雑形状容器、②粉砕媒体：極小径ガラス球、③砕料：石英材料100um と④溶媒：純水）とし、②～④を①に封入後①を同軸－回転速度160［rpm］で23～80時間粉砕した。ここで①を複雑形状にすることで、②～④の複雑な挙動を可能にし、②を極小径とした高効率－粉砕処理が実現できた。粒径1um 以下の粉体を得るために、粉砕処理後のコロイド溶液を回収し加熱－乾燥処理を行った。その粉体の粒度分布を、粒度分布測定器（動的光散乱法）により測定した結果、粒子は粒径0.5um 近傍に分布していた。一般的なボールミル粉砕機による粉砕処理と比較し、粒子径がおよそ20分の1の粉体が得られ、20数時間の短時間で粒径1um 以下の粉体が得られることを確認できた。



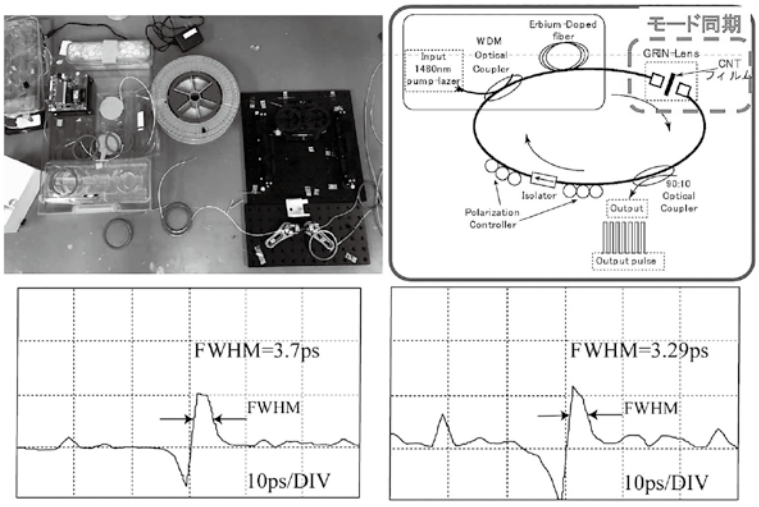



# P-40 カーボンナノチューブ（CNT）型－可飽和吸収体の作製法と光パルス圧縮効果に関する研究

○宮城 加津也[1)]、深野 陽介[2)]、桃原 司[2)]
1）琉球大学 工学部 工学科 電子情報通信コース
2）琉球大学 工学部 電気電子工学科

新素材カーボンナノチューブ（CNT）は、従来材料では難しい多くの特性を有しており、様々な構造変化に対し特性も変化する。主な特性として、高導電性・高強度・軽量に加えて、光を吸収／放出する光学特性などの特異な性能があり、更にCNTを様々な材料に混錬・付着させることで高機能－導電／光デバイスを容易に構成が可能なため注目されている。近年CNT製造法は、気相法により大量・高純度製造が可能になり、その構成や種類は、規則的配列－炭素原子がナノフィルム（グラフェン）を円筒状に巻かれた形状になっており、その同軸に対し各層を形成した：単相・複層（SW・MW）－カーボンナノチューブが存在する。そこでCNTの光パルス圧縮効果や非線形光学特性を応用することで、高性能－長寿命・簡素構造・短共振器・低価格が実現でき、安定駆動－次世代デバイスに向けた研究開発が盛んに行われている。しかし通常CNTは、複雑に絡みあい金属触媒などの不純物が混入していることが多く、その前処理（不純物除去・分散処理）と光損失低減を目的としたCNT－光デバイス構成が検証されている。

本稿では、様々なCNT分散処理・フィルム化を検討し得られた複数枚のCNT型－可飽和吸収体（SA：Saturable Absorber）を試作し、そのCNT-SAを光ファイバーリング共振器（OFR：Optical Fiber-ring Resonator）に組み込むことで、光パルス圧縮効果に対するCNT濃度依存とCNT-SAの光透過特性の検証を行った。ここで光パルス圧縮効果の評価方法として、光ストリークカメラ・高速－光／電気変換器を用いた。その結果、光パルス圧縮とCNT濃度依存は深い相関性があることが示せ、またCNT-SA動作が可能なCNT濃度を示すことができた。




(a) CNT-SAなしの光パルス　(b) CNT-SAありの光パルス

P-41

# Determination of higenamine in 5 Kampo medicine preparations using liquid chromatography-tandem mass spectrometry

○Tayag Jose Carlos[1)]、江口 真理奈[2)]、井東 虎太朗[2)]、山本 亮平[3)]、潮平 英郎[3)]、中村 克徳[1)3)]

1）琉球大学大学院医学研究科 薬物治療学講座
2）琉球大学 医学部
3）琉球大学医学部附属病院 薬剤部

The accessibility of traditional medicines (like Japanese Kampo) and herbal supplements both as over-the-counter and prescription drugs has raised concerns over unintentional doping by athletes. Higenamine is a β-2 agonist prohibited by the WADA (World Anti-doping Agency) commonly found in many herbal supplements and medicines in Asia. Although precise quantification of higenamine in these medicines is ideal so that manufacturers can properly inform their clients, athletes, sports personnel, and physicians can still benefit from qualitative checks to advice athletes on which medicines and supplements to avoid. This study developed a simple, reliable, and sensitive LC-MS/MS method for the detection of higenamine in 5 Kampo medicines and 1 herbal supplement that are most likely to be used by athletes, containing ingredients known to have higenamine. Sample preparation was performed by gravity filtration followed by solid phase extraction. Separation was performed on a Shiseido SG120 column (5 μm, 150 mm × 4.6mm i.d.) with gradient elution, using mobile phase (A) 0.1% Formic Acid (in water) and (B) 100% Methanol. Higenamine was detected in nanten-nodo-ame, shoseiryuto, goshuyuto, and tokishigyakukagoshuyushokyoto, but not in goshajinkigan and jidabokuippo.

# P-42 ドリル開孔術後のマウス大腿骨皮質骨の骨修復はメスがオスよりも良好である

○福田 北斗[1)]、筒井 正人[2)]、中村 英一郎[1)]、坂梨 まゆ子[2)]、佐羽内 研[1)]、塚本 学[1)]、酒井 昭典[1)]

1）産業医科大学 医学部 整形外科学
2）琉球大学 医学部 薬理学

**【背景】**臨床において損傷した骨の修復能に性差があるか否かは不明である。本研究ではこの点をマウス大腿骨ドリル開孔モデルを用いて検討した。

**【方法】**8週齢の野生型マウスおよび一酸化窒素合成酵素系完全欠損（triple n/i/eNOSs-/-）マウスを使用した。大腿骨骨幹部にドリルで直径1㎜の骨孔を作成し、開孔部の皮質骨のBMD値を1週ごとに4週目までマイクロCTで解析した。また、ドリル開孔術後1週目と4週目にマウスを屠殺して大腿骨を採取し、非脱灰標本の骨形態計測を行った。機序の検討では、メスでは、偽手術（Sham）群、卵巣摘除（OVX）群、OVX+Estradiol4週間投与（E2）群の3群において、オスでは、Sham群、精巣摘除（ORX）群、ORX+Testosterone4週間投与（T）群、ORX+Dihydrotestosterone4週間投与（DHT）群の4群において比較検討を行った。

**【結果と考察】**両性の野生型マウスにおいて、大腿骨のドリル開孔部皮質骨のBMD値は術後1～4週にかけて時間依存性に有意に増加した。興味深いことに、この値はオスに比してメスで有意に高値であった。さらに、BV/TV値もオスに比してメスで有意に高かった。次にその機序を検討した。メスにおいて、BMD値は、Sham群に比してOVX群で有意に低下したが、OVX+E2群ではその低下は抑制されていた。一方、オスでは、BMD値は、Sham群に比してORX群で有意に低下し、ORX+T群ではその低下は抑制されていたが、ORX+DHT群では抑制されなかった（TはE2に代謝されるが、DHTはE2に代謝されない）。これらのBMD値の変化は、血漿E2値の変化と有意な相関が認められたが（$r=0.79$ $P<0.05$）、血漿T値の変化とは有意な相関は見られなかった。これらの結果から、骨修復能の性差にはE2が関与していることが示唆された。最後に、E2のNOSsを介した骨保護作用が示唆されているので、NOSsの関与をn/i/eNOSs-/-マウスを用いて検討した。野生型マウスと対照的にn/i/eNOSs-/-マウスではドリル開孔術後の大腿骨皮質骨のBMD値に両性間で差を認めなかった。

**【結論】**ドリル開孔術後のマウス大腿骨皮質骨の骨修復はメスがオスよりも良好であることを初めて明らかにした。この機序にはE2およびNOSsが関与していることが示唆された。

# P-43 糞便移植は2/3腎摘一酸化窒素合成酵素系欠損マウスの心筋梗塞の発症を抑制する

○平良 雄司、筒井 正人
琉球大学 大学院 医学研究科 薬理学

**【背景と目的】**一酸化窒素合成酵素系（NOSs）は心血管系の恒常性の維持に重要な役割を果たしている。私達は2/3腎摘 NOSs 欠損（2/3NX-TKO）マウスが早期に高率に心筋梗塞を発症することを見出し、実験に有用な心筋梗塞を発症する動物モデルの開発に成功した（JMCC 2014）。最近、正常な糞便（腸内細菌叢）の移植が動脈硬化の抑制に有効であることが報告された。マウスは他のマウスの糞便を食べる習性があり、病態マウスと野生型（WT）マウスを同一ケージで飼育（co-housing）することにより糞便移植（腸内細菌叢移植）の効果を検討することができる。本研究では、2/3NX-TKO マウスと正常野生型マウスを co-housing して、当該モデルの心筋梗塞の発症における糞便移植の効果を検討した。

**【方法と結果】**2/3NX-TKO マウスの約90% は心筋梗塞で死亡することから死亡率を心筋梗塞発症の大まかな指標とした。2/3NX-TKO マウスの死亡率を WT マウスと co-housing しない群とした群の間で比較したところ、co-housing した群で死亡率が有意に低かった。次に WT マウス、2/3NX-TKO マウス、co-housing 群の WT マウス、および co-housing 群の2/3NX-TKO マウスにおいて糞便中の短鎖脂肪酸濃度を測定したところ、WT マウスと比較して2/3NX-TKO マウスでは酢酸濃度が有意に低下していたが、co-housing 群の WT マウスおよび co-housing 群の2/3NX-TKO マウスではその低下は見られなかった。この結果を踏まえて、2/3NX-TKO マウスの冠危険因子に対する酢酸投与の作用を検討したところ、0.1mM および0.35mM の酢酸の２週間経口投与は血圧値および空腹時血糖値を低下させる傾向を示した。

**【結論】**糞便移植（腸内細菌叢移植）は2/3NX-TKO マウスの心筋梗塞の発症を抑制することが示唆された。この機序には糞便中の酢酸が一部に関与していることが考えられた。

# P-44 沖縄特産“琉れん草”の抗肥満活性評価

○森本 晴子、池松 真也
沖縄工業高等専門学校 生物資源工学科

**【背景・目的】**近年、肥満者の割合は増加傾向にあり、肥満の予防や対策が必要とされている。肥満の進行には①前駆脂肪細胞の分化及び脂肪の蓄積、②脂肪細胞数の増加が関与しているため、前駆脂肪細胞の分化や脂肪の蓄積を抑制することが肥満の予防へ繋がると考えられている。さんかくシビラン（以下、琉れん草と記す）は沖縄県の一部地域で栽培されている、食経験のある葉物野菜である。これまでに免疫賦活作用や抗腫瘍活性についての研究はなされているが、抗肥満活性については殆ど検討されていない。前駆脂肪細胞を用いた先行研究において、琉れん草抽出物の抗肥満活性が示唆された。本研究では、前駆脂肪細胞株（3T3-L1）、肥満モデルマウス（C57BL/6J）を用いて、マウス個体における琉れん草抽出物の抗肥満活性評価を行うことを目的とした。

**【実験方法】**琉れん草の茎部を熱水抽出した後エタノール沈殿を行い、遠心分離にて沈殿物を回収した。沈殿物を水で再溶解し、0.22㎛フィルター濾過を行ったものを各種試験に用いた。細胞毒性評価試験では、96ウェルプレートに3T3-L1細胞を播種して24時間培養後、試料を添加してさらに24時間培養した。WST-1試薬（タカラバイオ株式会社）の添加2時間後に波長440nmの吸光度を測定し、細胞生存率を算出した。マウス個体における抗肥満活性評価では、沈殿物濃度が2㎎/㎖の試料を用いた。普通食または高脂肪食をC57BL/6Jマウスに2か月間与え、普通食群にはPBSを、高脂肪食群には陰性対照のPBS、試料のいずれかを経口投与した。投与開始から2か月後に各群の体重や体脂肪量、血清中の各種生化学指標を分析比較し、抗肥満活性の評価を行った。

**【結果・考察】**細胞毒性評価試験の結果、終濃度2㎎/㎖の試料にて細胞生存率86%が示されたことから、マウスへの経口投与試験には同濃度の試料を用いた。

経口投与試験について、高脂肪食群のうち、PBS群、琉れん草投与群において、体重と体脂肪量が普通食群よりも増加する傾向にあった。血清中の各パラメータについて、総コレステロール、中性脂肪、レプチン等6項目を測定した。総コレステロール、レプチン値は、陽性対照を除く高脂肪食群において、普通食群よりも高い傾向に見られた。また、中性脂肪について、高脂肪食群のうち、琉れん草投与群ではPBS投与群に比べて有意に値が低くなっていた。

これらの結果から、琉れん草抽出液は動物個体では肥満を抑えることはできなかったが、血中中性脂肪を低下させることが示唆された。今後、腸内菌叢の変化等を検討し中性脂肪低減の機序を推定する。

# P-45 DNA メチル化解析結果を用いた計算機科学による膵癌予後予測

○横山 勢也、東 美智代、谷本 昭英
鹿児島大学大学院 医歯学域医学系 腫瘍学講座 病理学分野

Pancreatic cancer remains a disease of high mortality despite advanced diagnostic techniques. MUC1 and MUC4 expression are related to the aggressive behavior of human neoplasms and a poor patient outcome. In contrast, MUC2 is a tumor suppressor, and we have previously reported that MUC2 is a favorable prognostic factor in pancreatic neoplasia. This study investigates whether the methylation status of three mucin genes from postoperative tissue specimens from patients with pancreatic neoplasms could serve as a predictive biomarker for outcomes after surgery. We evaluated the methylation status of three mucin genes promoter regions in pancreatic tissue samples from 169 patients. Then, integrating these results and clinicopathological features, we used support vector machine-, neural network-, and multinomial-based methods to develop a prognostic classifier. Significant differences were identified between the positive- and negative-prediction classifiers of patients in 5-year overall survival in the cross-validation test. Analysis of epigenetic changes in mucin genes may be of diagnostic utility and one of the prognostic predictors for patients with pancreatic ductal adenocarcinoma.

# P-46 繊毛運動における一酸化窒素の役割の検討

○加藤 香織[1)]、城戸 貴志[2)]、筒井 正人[3)]、下川 宏明[4)]、矢寺 和博[1)]

1）産業医科大学 医学部 呼吸器内科学
2）長崎大学 医学部 第二内科
3）琉球大学大学院医学研究科 薬理学
4）東北大学大学院医学系研究科 循環器内科学

**【背景・目的】**原発性線毛運動不全症（PCD）は有効な治療法のない難治性呼吸器疾患である。PCD の病態は不明な点が多く、線毛運動における NO の役割は明確には解明されていない。NO には3種の NO 合成酵素（NOS）が存在するが（誘導型 NOS：iNOS、神経型 NOS：nNOS、内皮型 NOS：eNOS）、シングル NOS ノックアウトマウスでは残存した他の NOS が代償的に働くため、本来の生体内での意義は明らかになっていない。今回、3種類の NOS を失欠させた NOSs 完全欠損マウスを用いて線毛機能における NO/NOSs の役割を明らかにすることを試みた。

**【方法】**8-12週齢の雄の C57BL6J マウス（野生型）と NOSs 完全欠損マウスを実験に使用し、リポ多糖（LPS）腹腔内投与前および投与4時間、24時間後に実験を行った。気管の線毛運動振幅数（ciliary beat frequency；CBF）を顕微鏡下に高速ビデオカメラを用いて評価した。また、線毛の超微細構造を電子顕微鏡を用いて評価した。

**【結果】**電子顕微鏡で評価した線毛の超微細構造は、両マウス間で中心微小管、周辺微小管や dynein arm 等の数や構造異常については明らかな差は認めなかった。LPS 投与前及び投与4時間後の CBF は、野生型マウスと NOSs 完全欠損マウスの間で差は認めなかったが、LPS 投与24時間後には CBF は両マウスともに有意に低下した。野生型マウスの LPS 投与群では生理食塩水投与群に比べて CBF は79.4% に低下したが、野生型マウスに比し NOSs 完全欠損マウスでは CBF はさらに低下した（野生型の LPS 投与群に対して76.9%）。NO donor である isosorbide dinitrate の前投与を行うと、NOSs 完全欠損マウスの CBF の低下は改善した（野生型の LPS 投与群に対して93.5%）。

**【結論】**NO/NOSs が線毛機能において重要な役割を果たしていることが示唆された。

# P-47 一酸化窒素合成酵素完全欠損マウスを用いた肺気腫における病態解明

○加藤 香織[1)]、筒井 正人[2)]、野口 真吾[1)]、内藤 圭祐[1)]、生越 貴明[1)]、下川 宏明[3)]、矢寺 和博[1)]

1）産業医科大学 医学部 呼吸器内科学
2）琉球大学大学院医学研究科 薬理学
3）東北大学大学院医学系研究科 循環器内科学

**【背景と目的】**肺気腫は肺胞壁の不可逆性破壊により慢性呼吸不全を呈する疾患である。未だ根本的な治療法はなく、肺気腫の病態解明と治療法・予防法の開発が求められている。肺気腫病変には3種類の一酸化窒素（NO）合成酵素（NOSs）アイソフォーム（誘導型 NOS：iNOS、神経型 NOS：nNOS、内皮型 NOS：eNOS）がすべて発現していることが報告されているが、肺気腫における NO/NOSs 系の役割は不明な点が多い。今回、3種類の NOS を失欠させた triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスを用いて肺気腫における NO/NOSs の役割を検討した。

**【方法】**8～10週齢の雄の野生型マウス、3種類の single nNOS$^{-/-}$、iNOS$^{-/-}$、eNOS$^{-/-}$ マウス、および triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスを実験に使用した。豚膵エラスターゼ（PPE）を気管内に投与し、マウス肺気腫モデルを作成した。対照群では生理食塩水を気管内に投与した。各マウスにおいて、PPE 投与3週後に、血漿 NOx 値の測定、肺気腫の重症度の評価（H & E 染色による平均肺胞隔壁間距離の測定、小動物用マイクロ CT による肺 CT 値の測定）、および気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数の評価を行った。また、NO 補充療法として sodium nitrate 45 mM の経口投与を行った。

**【結果】**PPE 投与3週後の血漿 NOx 値は、野生型マウスと比較して triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスで最も低値であった。PPE 投与3週後にすべてのマウスにおいて肺気腫病変形成が認められたが、その程度は野生型マウスに比して triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスで最も高度であり、平均肺胞隔壁間距離の増加および肺 CT 値の低下を認めた。気管支肺胞洗浄液中の総細胞数、好中球数、およびリンパ球数は triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスで最も増加していたことから、PPE 投与により triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスで高度な炎症が誘導されていることが示唆された。sodium nitrate 45 mM の経口投与は PPE 投与後の triple n/i/eNOSs$^{-/-}$ マウスの血漿 NOx 値を増加させ、肺気腫を軽減させた。

**【結論】**NO は肺気腫の病態において重要な保護的役割を果たしていることが示唆された。

# 謝　　辞

協賛法人および企業一覧

有限会社エコテック

エム・ケイ物産株式会社

住商ファーマインターナショナル株式会社

株式会社ダナフォーム

株式会社ツムラ

社会医療法人友愛会 豊見城中央病院

株式会社平山産業医事務所

株式会社フジタ医科器械

マルホ株式会社

琉球大学後援財団

（50音順、敬称略）

第4回黒潮カンファレンスを開催するにあたり、上記の法人および企業各社・団体より多大なご協賛あるいは広告掲載を賜りました。ご厚意に対し深甚なる感謝の意を表します。

第4回黒潮カンファレンス
実行委員長　筒井 正人

# 第４回黒潮カンファレンス
# プログラム・抄録集

実行委員長：筒井 正人

事　務　局：琉球大学大学院 医学研究科薬理学
〒903-0215　沖縄県中頭郡西原町上原207番地
TEL：098-895-1135　FAX：098-895-1411
E-mail：pharmaco@w3.u-ryukyu.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/

第4回 黒潮カンファレンス事務局

琉球大学大学院医学研究科薬理学

〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町上原207番地
TEL 098-895-1135　FAX 098-895-1411
E-mail : pharmaco@w3.u-ryukyu.ac.jp