

3月26日(水) E会場 パシフィコ横浜会議センター 3F 311+312
大学院生シンポジウムGS2 14:30~16:30

若手薬理研究者が展開する病態解明と薬効評価による創薬へのアプローチ
～領域を超えた交流から広がる創薬への道～

Approach for New Drug Discovery Developed by Young Pharmacological
Researchers Through Studies on Pharmacological Evaluation of Diseases and Drugs;
The Wave of New Drug Creation Developed by Exchange Out of Fields
小山 敏広¹, 本田 宗吉²(¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床薬学, ²熊本大学大学院
薬学教育部環境分子保健学)

近年、注目されているメタボリックシンドロームや精神神経疾患の増加に伴い、現代の疾病構造は多様化し複雑さを増している。このような状況において、創薬へのアプローチはこれまでの薬理学的研究に加え、分子生物学の発展を経て、多くの遺伝子・タンパク質等に対する網羅的な解析が盛んに行われるようになった。これらの分子生物学的研究手法が目覚ましく発展している中であって、これまでの動物・細胞を用いたいわゆる古典的な薬理学的手法による病態解明や薬効評価も創薬の過程において、その重要性を増していると言っても過言ではない。このような疾病構造の変化・多様化に対応するには、これまでの薬理学的手法と分子生物学的手法を取り入れ、様々な角度から創薬を行っていく必要があるだろう。その上で、様々な領域の若手薬理学者が互いに異なる視点から討論することは非常に有意義である。今回のシンポジウムでは、九州で続けられている大学院生主体の研究会における大学院生の交流をもとにして各分野の大学院生に講演を依頼した。本シンポジウムは、最先端の薬理学研究に挑戦している研究室の大学院生により、それぞれの領域の研究を自らの体験を交えて講演して頂くシンポジウムとしたい。また、多岐にわたる薬理学の分野の若手研究者や大学院生が積極的に意見交換を行い、互いに刺激し合うことによる薬理学研究分野の活性化により創薬への原動力となることを期待したい。

GS2-1

FOS タンパク質発現を指標にした咳嗽反射に関する研究

Expression of Fos-like protein in the brain stem caused by mechanical stimulation to
the lower airway in guinea pig

○北野 和人¹, 副田 二三夫¹, 白崎 哲哉¹, 高濱 和夫¹(¹熊本大院薬)

【目的】過去、多くの治療薬が開発されているものの、未だ多くの罹患者が存在する病態が咳である。この最大の要因は、咳が一様なものでなく多様性が存在することにある。我々は、モルモットを用いて咳のメカニズムの解明を目指しているが、本研究では、中枢へ入力を知る一環として、咳中枢として知られている弧束核部位を神経活動のマーカー Fos により染色しその多寡を見ることとし、加えて、カプサイシン処置、神経伝達物質のブロックがいかなる影響を与えるかについて検討した。【方法】Hartley 系雄性モルモットを麻酔し、喉頭に設けた小穴よりウサギの口周毛を挿入して器械的に刺激し、咳反射を記録した。刺激終了後に灌流固定し、作成した脳切片に対して Fos タンパク質の免疫組織染色を行い、陽性細胞数をカウントした。試薬類は定法に従って処置した。【結果・考察】喉頭部および気管分岐部の器械的刺激は、ともに、obex から吻側へ 1000 から 1600 μm の位置の孤束核において、Fos タンパク質陽性細胞数を有意に増加させたが、唯一、喉頭部刺激時における 1600 μm での増加は、他の区画との違いが見られた。この位置での孤束核の領域を8区画に分割し、区画毎にカウントした。その結果、分岐部刺激と、喉頭部刺激による Fos 陽性細胞数の増加する区画がそれぞれ異なっていた。本研究において、器械的刺激に応答する咳反射の求心路は、obex から吻側へ 1600 μm の孤束核領域に投射していること、このうち特に内側部位および背外側部位には喉頭部から、腹外側部位や中間部位には分岐部からの線維が主に投射している可能性が考えられた。

GS2-2

腎血管性高血圧ラット腸間膜動脈における血管周囲一酸化窒素含有神経の機能変化 Malfunction of perivascular nitric oxide (NO)-containing nerves in mesenteric resistance arteries of renovascular hypertensive rats

○小山 敏広¹, 畑中 由香子¹, 合田 光寛¹, 芳原 成美¹, 高山 房子¹, 川崎 博己¹
(¹岡山大・薬・臨床薬学)

【目的】我々はこれまでにラット腸間膜動脈において一酸化窒素 (nitric oxide; NO) を含有する神経 (NO 作動性神経) が分布し、血管収縮性の交感神経伝達を抑制的な調節していることを明らかにしている。そこで、本研究では腎血管性高血圧モデルラットである 2-kidney 1-clip (2K-1C) 高血圧ラットを用いて高血圧状態における血管緊張度調節に関与する血管周囲神経機能の変化を神経薬理的に検討した。【方法】2K-1C および偽手術ラットの摘出腸間膜動脈血管床の内皮除去灌流標本を作成し、Krebs 液を灌流し、灌流圧の変化を血管緊張度変化として測定し、経壁電気刺激 (PNS) による神経性の血管反応を観察した。また、灌流液中の noradrenaline (NA) 量を HPLC にて測定し、腸間膜動脈の神経性 NO 合成酵素 (nNOS) の発現量を Western blot 法にて定量した。【結果・考察】内皮除去標本において、NO 合成酵素阻害薬にて NO 産生を抑制すると、PNS による交感神経性の収縮反応が増大し、交感神経からの NA 遊離も促進された。2K-1C 高血圧ラット標本において、NO 産生抑制による収縮反応の増大作用は偽手術ラットに比べ小さかった。さらに、腸間膜動脈における nNOS の発現量は 2 K-1C 高血圧ラットにおいて低下していた。以上の結果、ラット腸間膜動脈に分布する NO 神経は交感神経からの NA の放出を抑制していると考えられる。また、2 K-1C 高血圧ラットにおける慢性的な高血圧状態では NO 神経機能が低下しており、その結果交感神経伝達が促進されていることが示唆される。

GS2-3

高次脳機能における心臓型脂肪酸結合蛋白質(H-FABP)の役割

The role of heart-type fatty acid binding protein in the brain function

○本橋 慧樹¹, 橋本 茜¹, 塩田 倫史¹, 近藤 尚武², 大和田 祐二³, 福永 浩司¹(¹東北大院・薬・薬理,²東北大院・医・細胞組織,³山口大院・医・器官解剖)

長鎖脂肪酸が神経系の発達や神経高次機能の調節等に深く関わっていることは良く知られている。しかし、長鎖脂肪酸の神経系細胞における機能発現の細胞内機構については未だ不明な点が多い。脂肪酸結合蛋白質 (FABP: Fatty Acid Binding Protein) は、一般に水に不溶性である長鎖脂肪酸に結合し、長鎖脂肪酸の細胞内動態や情報伝達の制御を担うと考えられている。心臓型 FABP (H-FABP: Heart-type Fatty Acid Binding Protein) は FABP 分子ファミリーの一つであり、成熟期の脳において神経細胞に発現が認められる。本研究では H-FABP の神経細胞での機能的役割を明確にし、長鎖脂肪酸の神経系作用の分子メカニズムを明らかにする事を目的として、H-FABP の遺伝子ノックアウトマウス (H-FABP 欠損マウス) の表現系解析を行った。H-FABP 欠損マウスは野生型に比べて探索行動の低下、不安行動の亢進、恐怖記憶の増強および認知機能の低下が認められた。さらに H-FABP 欠損マウス帯状皮質において、神経可塑性や神経生存に必須な転写因子である cyclic AMP-responsive element binding protein (CREB) の活性低下および brain-derive neurotrophic factor (BDNF) の発現低下、CREB の活性化に関わるカルシウム/カルモデュリン依存性プロテインキナーゼ IV (CaMK IV) および CaMKII の活性低下が認められた。以上の結果から、H-FABP が神経可塑性やシナプス伝達に関与し、情動や認知機能に影響を及ぼしている可能性が示された。

GS2-4

ニコチン受容体を標的とした統合失調症治療薬の可能性

The possibility of the treatment of schizophrenia targeting nicotinic receptor

○鴻海 俊太郎^{1,2}, 末丸 克矢², 川崎 博己¹, 町支 臣成³, 日比野 俐³, 荒木 博陽²
(¹岡山大薬,²愛媛大医,³福山大薬・医薬品化学)

近年、脳内のニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)が統合失調症における情報処理障害に関与していることが示され、nAChRは有用な治療薬開発の標的と考えられる。既に我々も、統合失調症の情報処理障害の動物実験モデルにおいて $\alpha 7$ 型nAChRを介した改善作用を確認している。本研究では、セロトニン受容体3型(5-HT₃)受容体遮断作用とともに $\alpha 7$ 型nAChR刺激作用を有するtropisetron (Trop)の作用について報告する。まず、Wistar系雄性ラットを用いて、ドパミン受容体アゴニスト apomorphine (Apo) およびグルタミン酸受容体拮抗薬 phencyclidine (PCP) により惹起される prepulse inhibition (PPI) 減弱に対する作用を検討した。その結果、TropはApoにより惹起されるPPI減弱を用量依存的に改善したが、5-HT₃受容体拮抗薬のondansetronは改善しなかった。一方、PCPにより生じるPPI減弱に対してTropは改善作用を示さなかった。TropのApo誘発PPI減弱改善作用はnAChR拮抗薬mecamylamineにより拮抗されたことから、TropのPPI改善作用はnAChRを介することが明らかとなった。次に、Apoにより誘発される常同行動に対する作用を検討したが、Tropは常同行動を改善しなかった。

以上の検討結果より、Tropは統合失調症の陽性症状に対しては改善作用を示さないものの、統合失調症に伴う認知障害や感覚運動情報制御障害を改善する可能性が示唆された。

GS2-5

超分子化合物[2]Rotaxaneによる抗腫瘍メカニズムの解明

Elucidation of anti-tumor mechanisms of supramolecular substance [2]Rotaxane

○原 一樹¹, 牧尾 圭悟¹, 中西 愛¹, 岸本 典子¹, 木村 公彦¹, 木村 恵¹, 牛島 逸子¹,
伊賀 紫結¹, 新矢 時寛¹, 高田 十志和², 西尾 和人³, 小野 信文¹
(¹福岡大薬,²東京工業大理工,³近畿大医)

超分子化合物[2]RotaxaneはCrown ether環と直鎖状構造が分子内連結した化合物であり、その2つの構造物は互いに分子内運動を行うことができる新規化合物である。その分子運動の特性から[2]Rotaxaneを細胞に導入した際、従来の抗悪性腫瘍薬に比べ細胞外へ排出され難いという想定のもと抗腫瘍作用を目的とした研究を行っている。我々はこれまでの研究で、Melanoma (B16/BL6)、Rectum carcinoma (Colon-26)に[2]Rotaxaneを添加したところ $1 \mu\text{M} \sim 10 \mu\text{M}$ において用量依存的な細胞死や増殖抑制を起こすことを報告してきた。その形態的特徴として急速な細胞質の縮小や隣接細胞間の解離が認められ、アポトーシスによる細胞死が示唆された。また、[2]Rotaxaneを構成するCrown ether環や直鎖構造のそれぞれにおいて同様の手法により検討したところ、細胞死や増殖抑制は認められなかった。この結果より、我々は各腫瘍細胞に及ぼす影響には[2]Rotaxaneの分子構造あるいは分子内運動に作用発現のメカニズムがあるのではないかと考え、超分子化合物による悪性腫瘍の新規治療法の可能性を展開している。現在[2]Rotaxaneの誘導体による作用を検討しており構造特異的な作用発現を比較するとともに、今回新たにHepatoma (Hep G2)、Adrenal pheochromocytoma (PC-12)を加え腫瘍選択性の有無について検討を行った。さらに、cell membraneに対する影響やアポトーシスに関連する遺伝子、タンパク質について現在検討を行っている。

一過性脳虚血ストレスによる神経障害に対する *Morinda citrifolia* の保護作用
Protective effect of *Morinda citrifolia* on the ischemic neuronal damage

○原田 慎一¹, 濱邊 和歌子¹, 神谷 浩平², 佐武 紀子², 徳山 尚吾¹
(¹神戸学院大薬 臨床薬学,²神戸学院大薬 生薬・天然物化学)

我々はこれまでに、脳卒中を予防するという観点から、沖縄産 *Morinda citrifolia* (Noni) の果汁摂取による虚血性神経障害予防作用の解明に取り組んできた。その中で、Noni 果汁 (ONJ) の 7 日間事前摂取により、一過性脳虚血モデルマウスにおける梗塞巣形成ならびに行動障害発現が有意に抑制されることを見いだしてきた。しかしながら、その詳細な作用機序は未だ不明である。以前から糖尿病が脳卒中の危険因子として知られるように、血糖値変化は神経障害の発現と関連が深く、特に最近では、虚血後早期の血糖値制御の重要性が報告されている。そこで本研究では、ONJ による脳保護作用機序の解明において、血糖値変化に着目し、検討を行った。実験では、ddY 系雄性マウスを用い、一過性脳虚血モデルは MCAO 法により作成した。虚血負荷前の 7 日間 ONJ を自由摂取させ、神経障害の評価を行った。その結果、虚血再灌流 3 日後における梗塞巣形成ならびに行動障害は 10% ONJ 摂取により有意に抑制されたが、3% ONJ 摂取では抑制されなかった。興味深いことに、空腹時血糖値は虚血再灌流 1 日後において有意に上昇した。さらに、1 日後において経口糖負荷試験を行ったところ、有意な血糖値上昇が見られ、10% ONJ はこの血糖値上昇を有意に抑制した。以上の知見から、神経障害の発現に先立ち耐糖能障害が発現することが示唆され、ONJ の 7 日間事前摂取は神経障害を抑制するとともに、脳卒中早期の耐糖能障害を抑制する可能性が示唆された。