

第337回 昭和大学学士会例会（薬学部会主催）

日 時 平成29年6月24日（土）10時～11時45分
場 所 昭和大学4号館302号講義室
担 当 昭和大学薬学研究科運営委員会

1. 神経バースト形成に対するリルゾールの抑制作用の機構（学位甲）

昭和大学大学院薬学研究科薬学専攻薬物治療学
林 思 婷¹⁾

¹⁾ 昭和大学薬学部臨床薬学講座薬物治療学部門

²⁾ 昭和大学医学部生理学講座（生体調節機能学部門）

大林 真幸¹⁾, 山元 俊憲¹⁾

鬼丸 洋²⁾, 向後 麻里¹⁾

【背景】筋萎縮性側索硬化症の治療薬として使用されるリルゾールは、持続性Na⁺チャンネル阻害を有し、主にグルタミン酸遊離阻害作用などが知られているが、神経バースト形成における作用機序は未だ解明されていない。本研究では新生ラットの摘出脳幹-脊髄標本を用いて、呼吸性神経活動形成および痙攣様活動に対するリルゾールの影響を検討した。

【方法】0～3日齢ラットから脳幹-脊髄を単離し酸化人工脳脊髄液で灌流した。第4頸髄神経腹側根（C4）から呼吸性活動をモニターし、延髄呼吸性ニューロンの膜電位を記録した。リルゾールを1～200 μMの濃度で15分間投与し、呼吸性神経活動に対する影響を調べた。また、TBOA（グルタミン酸輸送体阻害薬）あるいはビククリンとストリキニンの混合液の投与によって誘発される痙攣様活動に対するリルゾールの影響を調べた。

【結果】C4の活動頻度（呼吸数）はリルゾールにより用量依存的に抑制された。リルゾール（50～100 μM）は吸息先行型ニューロンの駆動電位を有意に減少させ、また、I_{INAP}の指標であるネガティブスロープ電流を抑制した。一方、低用量（10 μM）投与では、呼吸性活動は抑制されず、痙攣様活動は有意に抑制された。

【結論】今回の結果より、リルゾールはI_{INAP}を阻害することにより呼吸活動を抑制するが、呼吸活動に影響しない低用量投与時でも痙攣様活動を抑制することが明らかとなった。

2. 虚血再灌流障害皮弁モデルにおける抗VLA-4抗体投与による炎症軽減効果に関する研究（学位甲）

昭和大学大学院医学研究科外科系形成外科学専攻
古賀 康史

昭和大学医学部形成外科学講座

土佐 泰祥, 土佐 望美

マンチャーノ ニリナ アドリアン ジーン ビビエ

佐藤 伸弘, 吉本 信也

虚血再灌流障害という現象において、血管内皮細胞の変化は皮弁の生着や壊死のメカニズムに重要な役割を演じている。一方、近年種々の接着分子の発見が報告されてきている。その中でVLA-4は、リンパ球などの炎症部位への遊走、浸潤に重要な役割を担っている。今回抗VLA-4抗体投与による炎症反応軽減の有無や程度について研究するため、虚血再灌流障害皮弁モデルを用いた実験を施行した。SD雄ラット（225～250 g）の右鼠径部に45×30 mmの浅腹壁動静脈を茎とし、9時間クランプ後解除し再灌流を行った。25匹のラットは、クランプ解除15分前に尾静脈より抗VLA-4抗体（0.20 mg/kg）投与の治療群（n=10）、生食投与の対照群（n=10）、同一条件で5分間クランプを行ったシャム群（n=5）とに分けた。経過観察は7日間とした。皮弁生着面積（mean）の比較では、治療群で92.4%と対照群の12.5%に比べ有意に生着領

域の向上が認められた。組織学的所見の比較では、対照群で強い炎症細胞浸潤・浮腫などの炎症所見が認められたが、治療群では炎症所見は認められるものの軽度でシャム群に近い組織構造を呈した。抗 VLA-4 抗体投与により、炎症期における血管内皮細胞と白血球との接着が阻害され、その後のローリング現象のブロッキングによる炎症軽減効果が得られたものと推測された。

3. リハビリテーション領域における脳卒中患者の服薬自己管理導入に必要な予測式の開発と評価 (学位乙)

昭和大学大学院薬学研究科薬学専攻病院薬剤学
藤原 久登
昭和大学薬学部病院薬剤学講座
佐々木忠徳

【目的】脳卒中患者の服薬自己管理は、その後の病状の悪化や副作用発現などを予防する上で重要である。しかしながら、脳卒中患者において服用薬剤数や薬剤服用回数など薬剤関連情報を含んだ服薬自己管理導入のための客観的な指標はない。そこで、入院時各 Functional Independence Measure (以下, FIM) 項目および薬剤関連情報を含む患者データを用い、統一した基準のもとで薬剤管理指導にあたるための服薬自己管理導入に必要な予測式作成を本研究の目的とした。

【方法】2012 年 1 月～12 月の期間に昭和大学藤が丘リハビリテーション病院回復期リハビリテーション病棟から退院した脳卒中患者 104 名を対象とした。服薬自己管理達成を目的変数、入院時の各 FIM 項目および薬剤関連情報を含む患者データを説明変数としてロジスティック回帰分析を行った。

【結果】対象患者の平均年齢は 70.0 ± 2.3 歳、男性 65 名、女性 39 名であった。服薬自己管理を達成した患者は 39 名 (37.5%) であった。ロジスティック回帰分析の結果、4 因子が抽出され、以下の予測式を作成した。

予測式 $\ln(p/(1-p)) = -0.229 \times \text{入院時薬剤数} + 0.470 \times \text{入院時 FIM 歩行} + 0.416 \times \text{入院時 FIM 記憶} - 0.112 \times \text{年齢} + 4.404$

【考察】脳卒中患者における服薬自己管理導入に入院時の薬剤数が大きく影響することが明らかと

なった。また、作成した予測式は服薬自己管理導入の適正な指標となるであろう。さらに、統一した基準のもとで効果的な服薬指導ができると考えられる。

4. 5-FU 誘導骨髄抑制における TRPM2 チャネルの機能 (昭和大学学術研究奨励成果発表)

昭和大学薬学部生体制御機能薬学講座生理・病態学部門

石橋 正祥, 石井 正和
齊藤 清美, 巖本 三壽

【目的】血球細胞に分布している TRPM2 チャネルは、酸化ストレス (ROS) 感受性非選択的 Ca^{2+} 透過性チャネルであり、細胞死を誘導する。近年、5-フルオロウラシル (5-FU) による骨髄抑制における ROS の関与が報告された。本研究では、ROS を介し細胞死が生じるこの機構では、TRPM2 チャネルが寄与すると考え、その役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】野生型 (WT) および TRPM2 欠損 (KO) マウス (C57BL/6J) に 5-FU を投与し、末梢血白血球 (WBC) 測定、GFU-GM コロニーアッセイを行った。また、TRPM2 チャネルを強制発現させた HEK293 細胞 (TRPM2/HEK) を用いて 5-FU による細胞傷害における TRPM2 チャネルの作用を検討した。

【結果】5-FU 投与後の KO マウスでは、WBC, CFU-GM の減少が WT マウスに比較して有意に軽減されていた。WT マウスにおいて抗酸化剤の NAC を併用すると WBC, CFU-GM の減少が軽減されたことから、この 5-FU による影響に ROS が関与していることが考えられた。TRPM2/HEK においては、5-FU 暴露により過酸化水素に対する TRPM2 チャネルの反応性、および脂質過酸化が対照群に比較し、増大していた。

【結論】5-FU による骨髄抑制において、ROS が増加し、TRPM2 チャネルの反応性が増大していると考えられた。

5. 新奇細胞死（角化様分化）誘導による乳がん転移抑制手法の構築（昭和大学学術研究奨励成果発表）

昭和大学薬学部生体分子薬学講座腫瘍細胞生物学部門

石川 文博, 森 一 憲
柴沼 質子

正常細胞が細胞外基質との接着を失った際に誘導される細胞死はがん転移に対する最大の防御機構と考えられており、最近われわれはその一端を角化様分化誘導機構が担う可能性を見出した。今回、この角化様分化機構を担うシグナルを明らかにするため、代表的な角化関連遺伝子であるケラチン 10 (K10)、フィラグリン (FLG)、カスパーゼ 14 (Casp14) の発現誘導を指標に検討を行い、以下の結果を得た。まず、接着喪失に伴う FAK を介したインテグリンシグナルの低下が引き金となり角化関連遺伝子の誘導が起こることを明らかにした。さらにインテグリンシグナルの低下により活性化されるシグナル分子として p38MAPK を同定し、その活性が K10 と FLG の誘導に必要であることを見出した。一方で、Casp14 は p38MAPK 非依存的に誘導されることから、その発現誘導に関わる新たなシグナルを同定するために、Casp14 遺伝子上流 1.2 kbp をレポータープラスミドに組み込み、接着喪失による転写活性化に関わる領域 (DRE) の同定を試みた。その結果、DRE は上流 100 bp 中に存在し、この中に含まれる AP1 と NFκB の結合配列が Casp14 の転写活性化に必要であることが明らかになった。以上の結果から、接着喪失による角化関連遺伝子の誘導は、p38MAPK の活性化や AP1, NFκB を活性化するシグナルを介して起こる可能性が示唆された。

6. 瘀血に対する新たな治療法を目指した天然医薬素材の探索と臨床応用（昭和大学学術研究奨励成果発表）

昭和大学薬学部臨床薬学講座天然医薬治療学部門

小池 佑果

演者は体の恒常性を保つことに重きを置く漢方治療に着目し、血の滞りを意味する「瘀血（おけつ）」の改善を促す生薬や漢方方剤の探索を行っている。

これまでに生薬や漢方方剤 73 種より血液凝固線溶系に対する影響を評価し、線溶促進活性を有する生薬を見出し、その活性成分が不飽和脂肪酸類であることを明らかにした。

更に 17 種の生薬や漢方方剤がもつ血液凝固線溶系に対する作用をフィブリン平板法試験にて検討した。その結果、新たに 10 種に阻害活性を、3 種に促進活性を見出した。これらのうち強い線溶促進活性を認めたシャジンエキスとサンソウニンエキスについて各種クロマトグラフィーを用い分離を繰り返し行い、活性成分を単離した。得られた化合物について構造解析を行った結果、シャジンの活性成分は β -sitosterol およびサンソウニンの活性成分はオレイン酸であると同定した。次に、線溶系を促進する成分として得られていた不飽和脂肪酸について線溶の作用機序を解明する為、プラスミン活性に対する影響を検討した。その結果、不飽和脂肪酸は濃度依存的にプラスミンの活性を阻害する事を明らかにした。今後は、活性が認められた生薬や成分が血液成分に与える影響や瘀血モデルマウスに投与した場合の血流変化を検討し、これらの新たなエビデンスの構築と線溶促進活性の作用機序を解明することで、瘀血に対する新たな治療提案をしたいと考える。