

日本薬学会北陸支部平成20年度第1回総会
及び第118回例会

プログラム・講演要旨集

主催：日本薬学会北陸支部

日時：平成20年7月5日（土） 9時30分～16時50分

会場：富山大学杉谷（医薬系）キャンパス医学部臨床講義室

日本薬学会北陸支部平成20年度第1回総会及び第118回例会

主催: 日本薬学会北陸支部

日時: 平成20年7月5日(土) 9時30分～16時50分

会場: 富山大学杉谷(医薬系)キャンパス医学部臨床講義室(I, II)

(〒930-0194 富山市杉谷2630)

- | | |
|---------------------------------|-------------|
| ◎ 日本薬学会北陸支部平成20年度第1回総会(臨床講義室 I) | 13:30～13:50 |
| ◎ 特別講演(臨床講義室 I) | 13:50～14:50 |
| 生理活性物質としての硫化水素 | |
| 木村英雄 (国立神経精神センター神経研・遺伝子工学部長) | |
| ◎ 大学院優秀発表賞応募講演(臨床講義室 I) | 9:30～12:30 |
| ◎ 一般発表(臨床講義室 I,II) | 15:00～16:40 |
| ◎ 大学院優秀発表賞表彰式(臨床講義室 I) | 16:45～16:50 |
| ◎ 休憩室(ロビー) | |

- ① 薬学会北陸支部例会 大学院優秀発表応募講演及び一般発表の講演時間は1演題, 発表9分, 質疑応答3分とします。
- ② 発表には液晶プロジェクターを使用します。事務局では Windows 版ラップトップコンピュータ(PowerPoint 2003)のみを用意します。
- ③ Windows 版 PowerPoint でスライドファイルを作成し, それを「PowerPoint スライドショー」形式で保存した USB メモリーを各自ご持参ください。
- ④ Macintosh 版 PowerPoint で作成した場合は, 当日, Macintosh ラップトップコンピュータと外部ディスプレイ(液晶プロジェクタ)専用接続コネクタを各自ご持参ください(事務局では用意しませんのでご注意ください)。
- ⑤ 日本薬学会北陸支部例会は薬剤師研修センターの集合研修会の対象とし, 希望者には研修認定薬剤師制度の受講シールを配布します。
- ⑥ お問い合わせは, 富山大学和漢医薬学総合研究所複合薬物薬理学分野内 日本薬学会北陸支部第 118 例会事務局までお願いします。

Tel: 076-434-7613; E-mail: fukugo@inm.u-toyama.ac.jp

プログラム

- ◎ 日本薬学会北陸支部平成20年度第1回総会(臨床講義室 I) 13:30～13:50
- ◎ 特別講演(臨床講義室 I) 座長:松本欣三(富山大和漢研) 13:50～14:50
 生理活性物質としての硫化水素
 木村英雄(国立神経精神センター神経研・遺伝子工学部長)
- ◎ 大学院優秀発表賞応募講演(臨床講義室 I) 9:30～12:30
- ◎ 一般発表(臨床講義室 I,II) 15:00～16:40
- ◎ 大学院優秀発表賞表彰式(臨床講義室 I) 16:45～16:50

大学院優秀発表賞応募講演(臨床講義室 I) 9:30～12:30

9:30～10:18 座長:安東嗣修(富山大院薬)

- 1 PKC 阻害剤がヒト UDP-グルクロン酸転移酵素に及ぼす影響
 ○阿部佑子, 藤原亮一, 中島美紀, 横井毅 (金沢大院薬)
- 2 SOD2ノックダウンおよびCYP3A4発現アデノウイルス感染細胞を用いた薬物誘導性肝障害試験系の構築
 ○吉川幸孝, 細見浩子, 中島美紀, 横井毅 (金沢大院薬)
- 3 CYP3A4 によるベンゾジアゼピン系薬物の肝細胞障害性の検討
 ○水野克彦, 加藤美紀, 中島美紀, 横井毅 (金沢大院薬)
- 4 ラットを用いたグルタチオン合成酵素ノックダウンによる薬物誘導性肝障害の検討
 ○森田麻友, 赤井翔, 細見浩子, 常山幸一, 中島美紀, 横井毅 (金沢大院薬)

10:22～11:10 座長:東田道久(富山大和漢研)

- 5 アダプタータンパク質 NHERF1 によるタウリントランスポーター基質輸送能の変化
 ○横山怜示, 赤沼伸乙, 立川正憲, 細谷健一 (富山大院薬)
- 6 遺伝子発現を対照的に制御する2種類のメディエーター複合体キナーゼサブユニット
 ○梅村啓靖, 筒井大気, 田中亜紀, 廣瀬豊, 大熊芳明 (富山大院薬)
- 7 ヒト基本転写因子 TFIIE の点変異による機能の検討
 ○水田翔子¹, 高澤学¹, 奥田昌彦², 田中亜紀¹, 西村善文², 大熊芳明¹ (¹富山大院薬,²横市大院国際総合科学)
- 8 脊椎動物 CTD 脱リン酸化酵素 Ssu72 の遺伝子発現制御における機能解析
 ○山本真也¹, 湯田昌道², 荒木千里¹, 広瀬豊¹, 大熊芳明¹ (¹富山大院薬,²金沢大がん研)

11:14～11:50 座長:田口雅登(富山大院薬)

- 9 隔離飼育ストレス負荷マウスにおける脳内 EGR ファミリー遺伝子発現の変化
○小野和哉, 村上孝壽, 松本欣三 (富山大和漢研)
- 10 アレルギー性痒みに対するタクロリムスの抑制作用と PAR2 受容体陽性一次感覚神経
○田山 学, 中野 祐, 榎田晃久, 安東嗣修, 小坂真弓, 李 貞範, 倉石 泰 (富山大院薬)
- 11 Sominone による記憶促進作用および分子メカニズムの検討
○城屋敷 枝里, 東田 千尋 (富山大和漢研)

11:54～12:30 座長:矢倉隆之(富山大院薬)

- 12 プラテンシマイシンの形式全合成
○竹内孝輔, 松尾淳一, 石橋弘行 (金沢大院薬)
- 13 複素環含有マクロスフェライドの合成とアポトーシス誘導活性
○堀 綾奈, 松谷裕二, Kanwal Ahmed, Qing-Li Zhao, 近藤 隆, 根本英雄 (富山大院薬)
- 14 Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure-activity relationship
○Feng Li, Suresh Awale, Yasuhiro Tezuka, Shigetoshi Kadota (富山大和漢研)

12:30～13:30 昼食

13:30～13:50 日本薬学会北陸支部平成20年度第1回総会(臨床講義室 I)

- 13:50～14:50 特別講演(臨床講義室 I) 座長:松本欣三(富山大和漢研)
生理活性物質としての硫化水素
木村英雄(国立神経精神センター 神経研・遺伝子工学部長)

一般講演（臨床講義室 I）

15:00～15:48 座長:村上孝壽(富山大和漢研)

- I-1 ラットおよび培養ヒト腸上皮細胞を用いたリバビリンの小腸吸収特性解析
○森下宙輝, 鷹合麻里, 四谷綾乃, 鈴木寿樹, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也 (富山大院薬)
- I-2 α -リポ酸によるキトサン塩調製とその消化管内機能
○中村倫子, 玉置万裕子, 今城智美, 礒部隆史, 小藤恭子, 村田慶史 (北陸大・薬)
- I-3 高圧水流を利用した新規天然多糖類マイクロゲルの調製(その2)
○鈴木康之, 井藤 俊, 礒部隆史, 小藤恭子, 河島 進, 村田慶史 (北陸大・薬)
- I-4 グルロン酸ブロックを用いた高アンモニア血症予防製剤素材の検討
○遠山 光, 礒部隆史, 小藤恭子, 河島 進, 村田慶史 (北陸大・薬)

15:52～16:28 座長:東田千尋(富山大和漢研)

- I-5 中国瀋陽市における大気中多環芳香族炭化水素類の汚染現状と推移
○徳田貴裕¹, 佐藤紘介¹, 田村憲治², 唐寧¹, 亀田貴之¹, 鳥羽陽¹, 早川和一¹ (¹金沢大院薬, ²国立環境研究所)
- I-6 Influence of adenosine deaminase inhibitor, erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine hydrochloride, on 5-HT₂CR mRNA editing during the cultivation period in primary cultured cortical cells
○ハン ファム, 東田 道久, 松本 欣三 (富山大和漢研)
- I-7 がんワクチン療法における漢方アジュバントの創生
○小泉 桂一¹, 竹野 伸洋¹, 中西 剛², 櫻井 宏明¹, 中川 晋作³, 済木 育夫¹ (¹富山大和漢研、²岐阜薬科大・薬、³大阪大院薬)

16:45～16:50 大学院優秀発表賞表彰式(臨床講義室 I)

一般講演 (臨床講義室 II)

15:00~15:48 座長: 豊岡尚樹(富山大院薬)

II-1 Serratine の全合成研究

○西出洋志, 谷口剛史, 石橋弘行 (金沢大院薬)

II-2 エナミドへの 8-endo 選択的アリールラジカル環化反応

谷口剛史, ○材木久晃, 石橋弘行 (金沢大院薬)

II-3 o-エチニルフェニルリチウムとイソセレンシアネートによる含セレン複素環合成

○要 衛, 指田 春喜 (北陸大・薬)

II-4 4-ヨードフェノキシ酢酸-オキソン系を用いるジメトキシベンゼン類からキノン類への触媒的超原子価ヨウ素酸化反応

矢倉隆之, ○田 園, 山内 優 (富山大院薬)

15:52~16:40 座長: 手塚康弘(富山大和漢研)

II-5 Monomorine I 両対掌体の短工程合成

○周 徳軍, 豊岡 尚樹, 根本 英雄 (富山大院薬)

II-6 ベンゾシクロブテンの連続的電子環状反応による 2,3-ベンゾジアゼピンの合成

○片柳裕志, 松谷裕二, 根本英雄 (富山大院薬)

II-7 Withanolide 類の合成研究: Sominone モデル化合物の合成

○山川祐一郎, 小野雅士, 松谷裕二, 根本英雄 (富山大院薬)

II-8 単糖を強く取り込む大環状ヘテロ環オリゴマーの開発

○阿部 肇, 黒川普之, 井上将彦 (富山大院薬)

16:45~16:50 大学院優秀発表賞表彰式(臨床講義室 I)

特別講演

生理活性物質としての硫化水素

国立精神・神経センター 神経研究所 遺伝子工学研究部 木村英雄

はじめに

一酸化窒素 (NO) が内皮細胞由来平滑筋弛緩因子 (EDRF) として発見され、続いて、一酸化炭素 (CO) が、平滑筋弛緩因子として認められるようになった。その後、脳にも NO 合成酵素 (NOS) や CO 合成酵素 (ヘムオキシゲナーゼ) が存在することが確認され、神経伝達物質として機能していることが示唆されている。1973年に、Ramazzini によって硫化水素の毒性が報告されて以来、毒性については多くの報告がなされたが、1989、1990年に3つのグループによって脳内の sulfide 濃度が測定され、硫化水素が何らかの生理作用をもつのではないかと提案された。1996年に私達は、シスタチオニンペーダーシンターゼ (CBS) が脳で発現しており、システインを基質として、硫化水素を生産することと、硫化水素が記憶のシナプスモデルとして知られている海馬長期増強 (LTP) の誘導を促進することを示し、第3のガス性神経伝達修飾物質として機能している可能性を初めて提案した。翌年には平滑筋弛緩因子としての可能性を示唆した。その後、神経や心筋の細胞保護因子としての機能やインスリン分泌調節など様々な働きを持っていることがわかってきた。

シナプス伝達修飾物質

硫化水素が NO や CO と同じように、LTP の誘導を促進することを発見した (1)。ただ、標的は NO や CO とは異なり、グアニリルシクラーゼを活性化することではなく、cGMP のレベルを上げることもない。LTP の誘導に必要な NMDA 受容体の活性化を起こしていることを明らかにした。

グリア細胞は、神経細胞の保持に必要な細胞で、それ自体は反応性の乏しい細胞と考えられてきた。ところが最近、トリパタイトシナプスという概念、シナプス前と後の2者に加えて、それを取り巻いているグリア細胞を加えた3者間での情報のやり取りによって神経伝達の調節が行われることが提案されている。アストロサイトは、 H_2S に反応して細胞内カルシウム濃度を上昇し、この反応が近接するアストロサイトに次々と伝搬していき、近隣のシナプスに到達し、その調節を行うと考えられる (2)。

神経保護因子

海洋生物の中にはイオウを含んだ活性酸素除去因子として保有しているものがある。 H_2S も還元性の物質であるため、活性酸素除去因子として機能しているのではないかと予想された。この予想ははずれていたが、 H_2S は細胞内還元物質であるグルタチオンの濃度を上昇させることによってグルタミン酸による酸化ストレスに対抗し、酸化ストレスから神経細胞を保護する因子として働いていることがわかった。(3)。

平滑筋弛緩因子

NO や CO は、平滑筋弛緩因子として同定され、その後、脳においても神経伝達物質として働いていることが明らかになった。一方、H₂S は逆に、先ず、脳での働きが見つかり、平滑筋弛緩作用が見つかった。EDRF の NO 以外のもう 1 つの構成因子としての過分極因子 (EDRH) の探索が行われているが、これとはまた別に、平滑筋細胞から放出される弛緩因子の存在が報告されている。H₂S 生産酵素としての CBS や CSE は平滑筋で発現おり、この因子である可能性がある。内皮細胞に CBS や CSE 以外の H₂S 生産酵素が存在している可能性があり、硫化水素が EDHF である可能性も否定できない。

将来への展望

NO や CO に比べて、H₂S についてはまだ明らかになっていないことが多い。生体内での H₂S 生産酵素としては、現在のところ CBS と CSE がその候補として知られているが、ともに、in vitro で H₂S を生産することが示されているのみで、in vivo での証明がなされていない。これら以外にも H₂S 生産酵素が存在している可能性が残っている。

また、どのような刺激で、どこから H₂S が放出されてくるかについては、細胞を染色できるような H₂S 感受性物質の開発が待たれる。チオール感受性染色物質は市販されているが、細胞内の主要なチオールであるグルタチオンを認識してしまい、H₂S のみを特異的に認識することができないのが現状である。

もう 1 つ今後明らかにしていかなければならないことは、H₂S 感受性分子あるいは受容体である。H₂S は小さな分子であり、それ単独でタンパクの構造を変化させることはできないであろう。NO や CO のように、H₂S はヘムとの親和性が高く、標的としての可能性は高い。最近の硫化水素研究については今年 5 月 30 日の Science, Newsfocus を参照のこと (5)。

文献

1. Abe K & Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. J. Neurosci. 1996; 16: 1066-1071.
2. Nagai Y, Tsugane M, Oka J-I. & Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes. FASEB J. 2004; 18: 557-559.
3. Kimura Y. & Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. FASEB J. 2004; 18: 1165-1167.
4. Hosoki R, Matsuki N. & Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997; 237: 527-531.
5. Nothing rotten about hydrogen sulfide's medical promise. Science 320, 1155-1157 (2008).

大学院優秀発表賞応募講演（臨床講義室 I）

1

PKC 阻害剤がヒト UDP-グルクロン酸転移酵素に及ぼす影響

○阿部 佑子, 藤原 亮一, 中島 美紀, 横井 毅
金沢大院薬

【背景・目的】UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) は主に肝臓の小胞体膜に発現している主要な第 II 相薬物代謝酵素であり、さまざまな薬物や内因性化合物のグルクロン酸抱合を触媒している。タンパク質のリン酸化は代表的な翻訳後修飾であり、これまでにリン酸化阻害剤処置により UGT 酵素活性が低下することが報告されているが、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。本研究ではヒトの主要な分子種である UGT1A9 を中心に、PKC 阻害剤が UGT タンパク質の安定性と酵素活性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】UGT1A9 安定発現 HEK293 細胞に PKC 阻害剤 (クルクミン 30 μ M またはカルフォスチン C 100 nM) を 1 時間処置した後、total cell homogenate を調製し Western blotting を行った。酵素活性は 4-メチルウンベリフェロン (4-MU) を基質とし、生成した代謝物を HPLC により測定した。

【結果・考察】PKC 阻害剤を処置した後、細胞を TBS (Tris-buffer saline) で回収して調製した total cell homogenate において 4-MU グルクロン酸抱合活性の低下が認められ、Western blotting により UGT1A9 タンパク質が減少していることが明らかになった。一方、mRNA の発現量には変化が認められなかった。UGT1A9 タンパク質の減少は、プロテアソーム阻害剤 (MG132)、リソソーム阻害剤 (クロロキン)、プロテアーゼ阻害剤の処置によって抑制されなかったものの、SDS 含有バッファーで細胞を回収した時、UGT タンパク質の減少は完全に抑制された。一方、培養条件下で 4-MU を培地に添加し、培地中の生成代謝物を測定した場合、酵素活性はカルフォスチン C 処置では影響を受けず、クルクミン処置では低下が認められた。しかし total cell homogenate を用いた実験によりその活性低下はクルクミンが 4-MU に対し競合阻害を示したためであるということが明らかになった。以上より、これまで報告されている PKC 阻害剤による UGT 酵素活性の低下は、細胞回収後の UGT タンパク質の消失によるものであり、細胞内では UGT 酵素活性はリン酸化阻害の影響を受けていないことを明らかにした。

2

SOD2 ノックダウンおよび CYP3A4 発現アデノウイルス感染細胞を用いた薬物誘導性肝障害試験系の構築

○吉川 幸孝, 細見 浩子, 中島 美紀, 横井 毅
金沢大院薬

【目的】スーパーオキシドは薬物による肝障害の原因の一つとして知られており、主にミトコンドリアで産生される。Superoxide dismutase 2 (SOD2) はミトコンドリアに発現しており、スーパーオキシドの解毒に重要な役割を果たしている。また、シトクロム P450 (CYP) 3A4 は薬物の解毒のみならず代謝的活性化にも関与している。本研究では、SOD2 をノックダウンすることにより、CYP によって産生される反応性代謝物による細胞障害を高感度に検出する系を構築することを目的とした。

【方法】SOD2 をノックダウンするアデノウイルス (AdSOD2-shRNA) を作製し、SOD2 酵素活性値への影響を検討した。CYP3A4 を過剰発現するアデノウイルス (AdCYP3A4) と共に、ラット肝由来 BRL3A 細胞に同時感染させ、薬物による細胞障害性への影響を検討した。

【結果および考察】AdSOD2-shRNA 感染により、SOD2 mRNA およびタンパク質は、MOI 100 で感染 3 日後に発現量が約 60%減少し、SOD2 酵素活性は約 50%減少した。また、AdCYP3A4 を MOI 50 で感染させた時、ヒトヘパトサイトと同程度の CYP3A4 酵素活性が認められた。AdSOD2-shRNA と AdCYP3A4 同時感染させた BRL3A 細胞にダブソンとトログリタゾン进行处理したところ、コントロールおよび AdCYP3A4 感染細胞と比較して細胞障害性が濃度依存的に有意に増強された。スーパーオキシドと活性酸素種の有意な増加も認められた。一方、ロジグリタゾンでは細胞障害性は認められなかった。これより、CYP3A4 により活性代謝物が生成し、SOD2 ノックダウン状態でスーパーオキシドが増加することにより細胞障害性が増強されたと考えられる。SOD2 と CYP3A4 が関与する薬物の細胞障害性のスクリーニングに使用できる高感度な検出系を構築することができた。

3

CYP3A4 によるベンゾジアゼピン系薬物の肝細胞障害性の検討

○水野克彦、加藤美紀、中島美紀、横井 毅

金沢大院薬

【背景・目的】薬物誘導性肝障害の中でも特異体質性のものは肝障害の発症頻度が非常に低いため、医薬品の研究・開発段階の障害となっている。このような肝障害性薬物では CYP の触媒により生成される反応性代謝物の存在が数多く報告されている。中でも CYP3A4 は基質特異性が低く、臨床で使用される薬物の約半数を代謝するといわれている重要な分子種である。向精神薬であるベンゾジアゼピン系薬物の一部は肝障害を惹起するが、そのメカニズムは解明されていない。そこで 13 種類のベンゾジアゼピン系薬物の CYP3A4 による代謝的活性化について検討した。

【方法】ヒト肝癌由来 HepG2 細胞をベンゾジアゼピン系薬物とバキュロウイルス CYP 発現系ミクロソームを含む培養液でインキュベートし、ATP 産生量および MTT 活性による細胞生存率の測定およびアポトーシスの指標である caspase-3/7 活性の測定を行なった。さらに LC-MS/MS を用いて反応性代謝物のグルタチオン抱合体の検出を行なった。

【結果・考察】7 位にニトロ基を有するフルニトラゼパム、ニメタゼパム、ニトラゼパムのみが CYP3A4 存在下で HepG2 細胞生存率の顕著な低下および caspase-3/7 活性の増加を示した。CYP2C9 や CYP2C19 存在下では細胞生存率の変動は認められなかったため、フルニトラゼパム、ニメタゼパム、ニトラゼパムの肝細胞障害性は CYP3A4 に起因することを明らかにした。その他の被験薬は 7 位にニトロ基を有しておらず、CYP3A4 による細胞生存率の変動は認められなかった。よって、本研究で使用了ベンゾジアゼピン系薬物について、7 位以外の側鎖や基本骨格の 7 員環の構造は CYP3A4 による代謝的活性化と関連しないと考えられる。また、フルニトラゼパムおよびニメタゼパムは CYP3A4 および還元型グルタチオンとインキュベートすることによりグルタチオン抱合体を検出できた。さらにフルニトラゼパムは CYP3A4 存在下で 7 位にグルタチオン抱合を受けた付加体を生成していることが示された。これより、7 位にニトロ基を有するベンゾジアゼピン系薬物の肝細胞障害性は、CYP3A4 による代謝的活性化が一因である可能性が示された。

4

ラットを用いたグルタチオン合成酵素ノックダウンによる薬物誘導性肝障害の検討

○森田 麻友、赤井 翔、細見 浩子、常山 幸一、中島 美紀、横井 毅

金沢大院薬

【背景・目的】薬物の反応性代謝物は主に肝臓におけるグルタチオン抱合によって解毒されるが、この解毒能がヒトに比べてげっ歯類の方が高いことが、実験動物における薬物誘導性肝障害の低い検出感度の一因と考えられる。我々はこれまでに、グルタチオン合成酵素をノックダウンしたラットを作製し、アセトアミノフェンの肝障害を極めて高感度に検出可能であることを報告した。本研究では、このモデルラットを用いて、アセトアミノフェン以外の薬物による急性および亜急性の薬物誘導性肝障害について検討した。

【方法】 γ -Glutamylsysteine synthetase (γ -GCS) をノックダウンするアデノウイルス (AdGCS^{sh}-shRNA) を 8 週齢の雄性 F344 ラットの尾静脈より投与し、グルタチオン減少モデルラットを作製した。その後、急性肝障害を検討するためにジクロフェナク (0, 50, 100 mg/kg) またはフルタミド (0, 1000, 1500 mg/kg) を単回投与した。亜急性肝障害を検討するためにジクロフェナク (0, 5, 10 mg/kg) またはフルタミド (0, 100, 500 mg/kg) を 1 日 1 回 1 週間反復投与した。肝障害性は血清 AST, ALT, ビリルビン値および肝組織像より判断した。

【結果・考察】グルタチオン減少モデルラットを用いたジクロフェナクの単回およびフルタミドの単回および反復投与実験において、ALT 値は対照群に比べ有意な上昇が認められた。ビリルビン値はフルタミド単回投与実験において対照群と比べ上昇傾向が認められた。さらに、フルタミド投与実験において肝細胞の変性および脱落が認められた。以上より、グルタチオン減少モデルラットは急性および亜急性の薬物誘導性肝障害の発現を高感度に検出する有用な手段になり得ると考えられる。

5

アダプタータンパク質 NHERF1 によるタウリントランスポーター基質輸送能の変化

○ 横山 怜示, 赤沼 伸乙, 立川 正憲, 細谷 健一(富山大学院薬)

【目的】 γ -Aminobutylic acid (GABA) は rat タウリントランスポーター (rTauT) の基質であるが、TauT を導入する細胞株が異なる事で GABA の取り込み活性に大きな差が認められる事を当研究室において明らかにしている。本結果は、内在性タンパク質の発現 profile が細胞株間で異なるために TauT の機能が制御されているためと予想される。rTauT の C 末端には PDZ motif が存在し、かつ各細胞株において PDZ タンパク質の発現様式が異なることが報告されている。そこで、我々は「TauT を介した GABA の取り込み活性は PDZ タンパク質によって制御されている」と仮説を立てた。本研究では、PDZ タンパク質である NHERF1 に着目し、これら PDZ タンパク質による TauT の機能制御を明らかにする事を目的とした。

【方法】 $[^3\text{H}]$ GABA の取り込み能を、rTauT 及び rNHERF1 cRNA co-injected アフリカツメガエル卵母細胞 (oocyte) を用いて解析し、rNHERF1 タンパク質の発現を Western blot 法にて評価した。ラット脳における NHERF1 タンパク質と rTauT の C 末端アミノ酸との相互作用を GST pull-down assay によって解析した。

【結果・考察】 rTauT cRNA injected oocyte 及び rTauT 及び rNHERF1 cRNA co-injected oocyte における $[^3\text{H}]$ GABA の取り込みは濃度依存性を示し、 K_m 値は、それぞれ 0.98mM 及び 0.84mM と大きな変化はなかったが、最大取り込み速度は、rTauT cRNA のみを注入した oocyte に比べ、rTauT 及び rNHERF1 cRNA co-injected oocyte において約 1.4 倍増加した。Western blot 解析から、rTauT 及び rNHERF1 cRNA co-injected oocyte において NHERF1 のタンパク質発現が示された。さらに、rTauT C 末端を含む GST 融合タンパク質と脳 lysate を用いた GST pull-down assay の結果、rTauT の C 末端と rNHERF1 が相互作用することが示唆された。一方、rTauT C 末端の PDZ モチーフを欠損させた GST 融合タンパク質では、rNHERF1 由来のバンドが検出されなかったことから、その相互作用には rTauT の C 末端に存在する PDZ モチーフが関与することが示唆された。以上の結果から、rNHERF1 は rTauT の C 末端の PDZ モチーフと相互作用し、rTauT を介した GABA の輸送機能を促進する可能性が示された。

6

遺伝子発現を対照的に制御する 2 種類のメディエーター複合体キナーゼサブユニット

梅村啓靖, 筒井大気, 田中亜紀, 廣瀬 豊, 大熊芳明 (富山大学院薬)

【目的】 真核生物において Pol II 最大サブユニットの C 末端(CTD)をリン酸化することにより遺伝子発現の制御に関わる重要な因子として、メディエーター複合体が同定された。当研究室ではこれまで、メディエーター複合体の中で唯一酵素活性のあることが知られた hCDK8 サブユニットに着目してきた。ところが、近年 hCDK11(別名 hCDK8-L)もメディエーター複合体のキナーゼサブユニットであることが報告された(Sato et al., *Mol. Cell* 14, 685-691, 2004)。そこで我々は、なぜメディエーター複合体には hCDK8 と hCDK11 の 2 種類のキナーゼサブユニットが存在し、またその機能に違いがみられるのかを明らかにすることを目的としている。

【方法】 (1)N 末にタグを付けた hCDK11 を恒常的に発現する HeLa 細胞株を樹立し、hCDK11 を含む複合体を精製し、解析した。(2)HeLa 細胞に siRNA を導入し、細胞内で発現する hCDK8、hCDK11 を効果的にノックダウンする条件を決めた。その条件で、さらにレポーター遺伝子を導入しルシフェラーゼ活性を測定することで、Gal4-VP16 依存的な細胞内での転写活性化に対するそれぞれのキナーゼサブユニットの影響を検討した。

【結果・考察】 (1)hCDK11 も、hCDK8 と同様にメディエーター複合体を構成すること、両者は同じ複体内には共存しないことを明らかにした。(2)hCDK8 は Gal4-VP16 依存的な転写の活性化に寄与するが、hCDK11 は hCDK8 とは逆に転写を抑制することを明らかにした。

7

ヒト基本転写因子 TFIIE の点変異による機能の検討

水田翔子¹、高澤 学¹、奥田昌彦²、田中亜紀¹、西村善文²、大熊芳明¹ (¹富山大学院薬、²横浜市大院国際総合科学)

【目的】真核生物では、タンパクをコードする遺伝子の転写は RNA ポリメラーゼ II (Pol II) により行われる。その際に正確な位置から転写を開始するためには、プロモーター上に Pol II が 5 種類の基本転写因子 (TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIIF, TFIIH) と転写開始前複合体を形成することが必須である。これらの基本転写因子の中で、TFIIE は TFIIH を転写開始前複合体に招き入れ、転写開始時に TFIIH による Pol II の最大サブユニットの C 末端にある 7 アミノ酸 (YSPTSPS) の繰り返し領域 CTD のリン酸化を促進する重要な役割を果たしている。私は今回、転写開始において重要な酵素活性をもつ TFIIH とその酵素活性を制御する TFIIE との関係を分子レベルでさらに追及するために、TFIIE α の C 末端にある酸性領域の点変異体を作成し、その機能解析を行った。

【方法】ヒスチジンタグを N 末に付加したヒト TFIIE α の野生型と点変異タンパク質を、大腸菌で発現し、Ni-NTA agarose で精製した。これらの組換えタンパクを用いて、GST pull-down アッセイにより TFIIH のサブユニットの一つである p62 との結合実験を行った。また *in vitro* 転写再構成アッセイ、Pol II CTD のリン酸化アッセイにより、ヒト TFIIE α の機能の検討を行った。

【結果・考察】TFIIE α の 387 番目フェニルアラニン、390 番目バリンの点変異により、直鎖型 DNA を鋳型に用いた *in vitro* 転写再構成アッセイでは活性が低下した。また p62 との結合及び Pol II CTD のリン酸化活性も低下した。以上の結果から、この 2 つのアミノ酸は p62 との結合に必要であり、転写開始よりも転写開始から伸長への移行に必要である可能性が示唆された。また、我々は横浜市立大学の西村教授、奥田博士と共同で、TFIIE α の酸性領域と p62 の N 末端にある Pleckstrin homology (PH) ドメインの構造を同定した。この共構造からも、TFIIE α の 387 番目フェニルアラニン、390 番目バリンは p62 PH ドメインとの結合に重要であることが実証された。

8

脊椎動物 CTD 脱リン酸化酵素 Ssu72 の遺伝子発現制御における機能解析

山本真也¹、湯田昌道²、荒木千里¹、広瀬豊¹、大熊芳明¹ (¹富山大学院薬、²金沢大がん研)

RNA ポリメラーゼ II (Pol II) 最大サブユニットの C 末端領域 (CTD) は、進化的に保存された 7 アミノ酸配列 (YSPTSPS) の繰り返し構造をとっている。CTD の 2 番目と 5 番目のセリンは、転写過程においてリン酸化制御をうけ、リン酸化 CTD は RNA プロセシング因子やヒストン修飾因子の足場として機能することによって、転写とこれらの反応を共役的に制御する上で中心的な役割をはたす。我々は、CTD リン酸化制御因子 Ssu72 の機能解析を通じてこれら事象の共役的制御メカニズムの解明を試みている。出芽酵母 Ssu72 は当初、基本転写因子 TFIIB と相互作用する因子として同定され、その後特定の RNA 前駆体の 3' 末端形成に必要であること、CTD の 5 番目のセリン特異的な脱リン酸化酵素であることがわかった転写の開始と終結の両方に関与する興味深い因子である。一方ヒト Ssu72 は、腫瘍抑制因子 Rb と相互作用する因子として報告されているが、その機能はほとんどわかっていない。

我々はこれまで、ヒト Ssu72 に対する特異抗体を調製し、この抗体を用いた解析から HeLa 細胞において Ssu72 は主に核に局在し、細胞当たり約 10 数万分子存在することを見出した。また ChIP 解析により、Ssu72 は Pol II によって恒常的に転写されている GAPDH のプロモーター近傍や U2 snRNA 遺伝子上に存在するが、Pol III によって転写される U6 snRNA 遺伝子上には存在しないことを示唆した。さらに、高頻度に標的組換えを起こすトリ B 細胞株 DT40 を用いた Ssu72 コンディショナルノックアウト細胞株を樹立し機能解析を行っている。これまでの解析から、Ssu72 ノックダウンによって細胞増殖が停止し、生存率が低下したことから Ssu72 は生存に必須であることが示唆された。現在、遺伝子上に分布する Pol II CTD リン酸化状態が Ssu72 ノックダウンにより影響を受けるかを ChIP 法により解析しているので報告したい。

隔離飼育ストレス負荷マウスにおける脳内 EGR ファミリー遺伝子発現の変化

○小野和哉、村上孝壽、松本欣三（富山大学・和漢研）

【目的】マウスを個別に飼育して、いわゆる隔離飼育ストレスを負荷すると攻撃性の亢進や認知・記憶障害等の様々な行動変化を示す。このような行動変化の特徴から隔離飼育マウスは統合失調症などの精神神経疾患のエピジェネティックなモデル動物として用いられているが、その発症メカニズムについては未だ明らかとなっていない。我々は、近年統合失調症の発症に関与することが示唆されている最初期遺伝子の1つである Early Growth Response (EGR)ファミリー遺伝子の発現量が、隔離飼育ストレスによって変化することを見出したので報告する。

【方法】4週齢雄性 ICR 系マウスを隔離(SI)または群居飼育(GH; 5匹/ケージ)した。6週間飼育後、新規侵入者に対する攻撃行動を評価した。また、3日～8週間飼育した SI 及び GH マウスの脳を摘出し、各群のマウスから脳を摘出し、total RNA を抽出後、Real Time PCR 法により EGR ファミリーの遺伝子発現量変化を解析した。

【結果・考察】6週間隔離飼育した動物群では攻撃行動が認められた。4-8週間飼育後の SI 群の脳皮質における EGR-1, 2 及び 4 遺伝子の発現量はどれも GH マウスに比べて有意に低値であった。SI によるこれらの遺伝子発現の低下は飼育開始 1 週間後でも認められたが、飼育開始 3 日後では認められなかった。一方、EGR-3 及び EGR ファミリー関連遺伝子の 1 つである *reelin* の遺伝子発現量には有意な差は見られなかった。最初期遺伝子は本来、外界からの刺激などにより発現増加するものであるが、本研究の結果は、EGR-1, 2 及び 4 遺伝子発現量の低下が攻撃行動などの異常行動誘発に関与する可能性を示唆する。

10

アレルギー性痒みに対するタクロリムスの抑制作用と PAR2 受容体陽性一次感覚神経

○田山 学¹、中野 祐¹、榎田晃久¹、安東嗣修¹、小坂真弓¹、李 貞範²、倉石 泰^{1,3}
（富山大院・医薬研・¹応用薬理、²生薬学、³21st Century COE プログラム）

【目的】掻痒性皮膚疾患の痒みに対するタクロリムスの鎮痒作用が報告されているが、その作用機序の詳細は不明である。本研究では、タクロリムスの鎮痒作用機序に関して検討した。【方法】実験には、雄性 ICR 系マウスを用いた。蚊の唾液腺抽出物 (ESGM: 10 µg/site) を週 2 回、計 4 週間尾側背部に皮内注射し感作した。抗原チャレンジでは、予め除毛しておいた吻側背部に ESGM (10 µg/site) を皮内注射した。注射部位への後肢による掻き動作を痒み様反応の指標として数えた。また、脊髓切片を免疫染色に用いた。【結果・考察】H₁ ヒスタミン受容体拮抗薬 terfenadine は、ESGM 誘発アレルギー性掻痒反応を抑制しなかったが、セリンプロテアーゼ阻害薬 (nafamostat mesilate および aminoethyl benzylsulfonyl fluoride) は抑制した。したがって、アレルギーの痒み様反応は、ヒスタミンの関与は低く、セリンプロテアーゼの関与が高いと考えられる。1%タクロリムス (エタノール溶液) の吻側背部への塗布は、アレルギー性掻痒反応及び PAR2 プロテアーゼ活性化受容体活性化ペプチド (SLIGRL-NH₂) の皮内注射による掻痒反応を抑制したが、ヒスタミンの皮内注射による反応は抑制しなかった。脊髄後角での c-Fos (神経興奮のマーカー) 発現は、アレルギー刺激と PAR2 活性化ペプチドによる刺激では IB4 陽性領域 (脊髄後角第 2 層内側部) より表層 (第 2 層外側部と第 1 層) に多く見られたが、ヒスタミンによる刺激では脊髄後角の IB4 陽性領域に多く分布していた。溶媒注射では c-Fos 発現はほとんど認められなかった。以上より、末梢からの痒み刺激の種類によって異なる一次感覚神経が興奮することが明らかとなった。蚊アレルギー性掻痒反応にはセリンプロテアーゼと PAR2 受容体陽性一次感覚神経が関与すると考えられる。タクロリムスのアレルギー性の痒みに対する抑制効果は、PAR2 陽性一次感覚神経に対する作用が関与する可能性が考えられる。

Sominone による記憶促進作用および分子メカニズムの検討

○城屋敷枝里、東田千尋

富山大 和漢研 民族薬物研究センター薬効解析部

【目的】以前の研究において、ラット大脳皮質初代培養神経細胞に amyloid β (25-35) を処置することによる神経突起の萎縮が、sominone (分子量 458.6) の添加により再伸展することが示された。しかし、sominone の記憶への作用は検討されていない。よって本研究では、sominone の記憶への作用を動物レベルで検討することと、sominone の分子メカニズムを解明することを目的とした。【方法及び結果】細胞実験：正常なラット大脳皮質神経細胞に sominone ($1 \mu\text{M}$) を処置し immunocytochemistry を行った。処置 4 日後には軸索と樹状突起が有意に伸展した。Sominone の標的分子を探索するためリン酸化受容体抗体アレイを行ったところ、sominone 刺激によりリン酸化を受ける分子として RET および ACK1 が候補に上がった。RET および ACK1 と、sominone による突起伸展作用の関わりを検討するため、siRNA 処置により RET、ACK1 をそれぞれノックダウンさせると、いずれの場合も sominone による樹状突起伸展作用が見られなくなった。動物実験：正常マウス (ddY mice、雄性、6 週齢) に sominone ($10 \mu\text{mol/kg}$) を単回腹腔内投与し、4 日後に物体認知記憶を 5 日後に空間記憶を検討したところ、対照群と比べて、いずれの記憶も促進された。また、sominone 腹腔内投与 1 時間後の脳内を摘出し immunohistochemistry を行ったところ、リン酸化型 RET とリン酸化型 ACK1 の発現量が増加していることが示された。【考察】Sominone による神経突起伸展には、少なくとも RET や ACK1 のリン酸化の増加が関与することが示唆された。正常マウスへの sominone 投与により、脳内においても RET、ACK1 のリン酸化が増加し、記憶が促進された。以上の結果より、RET および ACK1 の活性化が、神経突起を伸展させることを介して記憶を促進させるという可能性が示唆される。現在、脳内の神経回路網を形成する要素である軸索、樹状突起、シナプス等の密度に及ぼす sominone 投与の影響をマウス脳切片での immunohistochemistry により検討している。さらに今後、sominone が RET や ACK1 を活性化する詳細なメカニズムと、それらが突起伸展につながるシグナルカスケードについて主として細胞レベルで検討していく予定である。

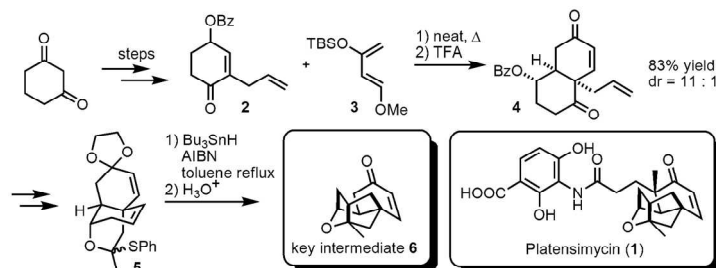
プラテンシマイシンの形式全合成

○竹内孝輔, 松尾淳一, 石橋弘之

(金沢大院薬)

【目的・方法】Platensimycin (1) は脂肪酸生合成阻害によって、MRSA, VRE, VRSA を含むグラム陽性菌に対して広範な抗菌スペクトルを示すことが近年見出された。またそのユニークな構造的特徴から合成研究が盛んに行われている。我々は Platensimycin (1) の前駆体である 6 を立体選択的に合成する方法として、enone 2 および Danishefsky 型 diene 3 を用いる Diels-Alder 反応を鍵反応とする合成を計画した。

【結果】1,3-Cyclohexanedione から合成した enone 2 と diene 3 を neat 条件下加熱することによって Diels-Alder 反応を進行させ、続いてその成績体を酸処理して diketone 4 を収率 83%, ジアステレオ比 11:1 で得た。4 を 5 へと導いた後にラジカル条件に付し、次いで酸処理することによって鍵中間体 6 を収率 47% で得た。合成した 6 の各スペクトルデータは文献値と一致した。

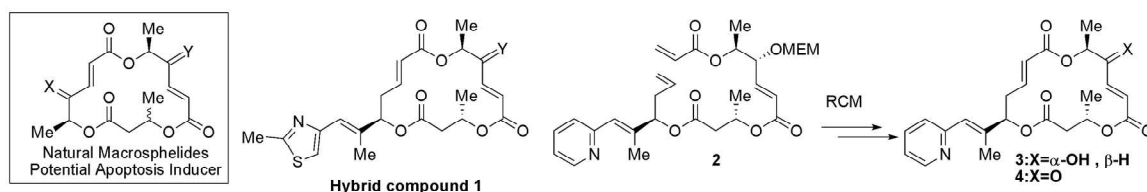


複素環含有マクロスフェライドの合成とアポトーシス誘導活性

富山大院医薬○堀 綾奈、松谷裕二、Kanwal Ahmed、Qing-Li Zhao、近藤 隆、根本英雄

【目的】当研究室では、細胞接着阻害など様々な生物活性を示す **Macrosphelide** 類に関する研究を行ってきており、近年、これらの天然物がヒト腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する作用を示すことを見出した。更に、類似した活性を有する **Epothilone** 類のチアゾール側鎖を組み込んだ新規ハイブリッド化合物(**1**)において、活性の顕著な増強が認められた。本研究では、このチアゾール部をピリジン側鎖とした新規誘導体の、閉環メタセシス (RCM) を利用した合成および生物活性について検討を行った。

【方法および結果】キラルな合成素子を脱水縮合にて順次連結させ、数行程を経て、RCM 前駆体(**2**)とした。第二世代 Grubbs 触媒を用いた RCM は円滑に進行し、標的化合物(**3**)および(**4**)の合成を達成した。これらの合成の詳細とアポトーシス誘導活性について報告する予定である。



Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure-activity relationship

○ Feng Li, Suresh Awale, Yasuhiro Tezuka and Shigetoshi Kadota

Institute of Natural Medicine, University of Toyama

Several classes of flavonoids [flavanoids (**1–10**), flavonol (**11**), isoflavones (**12–18**), isoflavanones (**19–22**), isoflavans (**23–26**), chalcones (**27–30**), auronol (**31**), pterocarpanes (**32–37**), 2-arylbenzofuran (**38**), neoflavonoid (**39**)] and lignans (**40–42**) isolated from the MeOH extract of Brazilian red propolis were investigated for their cytotoxic activity against a panel of six different cancer cell lines including murine colon 26-L5 carcinoma, murine B16-BL6 melanoma, murine Lewis lung carcinoma, human lung A549 adenocarcinoma, human cervix HeLa adenocarcinoma and human HT-1080 fibrosarcoma cell lines. Based on the observed results, structure-activity relationships were established. Among the tested compounds, 7-hydroxy-6-methoxyflavanone (**3**) exhibited the most potent activity against B16-BL6 (IC₅₀ 6.66 μM), LLC (IC₅₀, 9.29 μM), A549 (IC₅₀, 8.63 μM) and HT-1080 (IC₅₀, 7.94 μM) cancer cell lines, and mucronulatol (**26**) against LLC (IC₅₀, 8.38 μM) and A549 (IC₅₀, 9.9 μM) cancer cell lines. These activity data were comparable to those of the clinically used anticancer drugs 5-fluorouracil and doxorubicin against the tested cell lines, suggesting that **3** and **26** are the good candidates for future anticancer drug development.

一般講演（臨床講義室 I）

I-1

ラットおよび培養ヒト腸上皮細胞を用いたリバビリンの小腸吸収特性解析

○森下宙輝、鷹合麻里、四谷綾乃、鈴木寿樹、石田和也、田口雅登、橋本征也
富山大学大学院 医学薬学研究部

【目的】リバビリンは水溶性が高いにも関わらず消化管吸収が比較的良好であり、Na⁺依存性核酸トランスポーターCNT2の基質であると報告されている。しかし、小腸におけるCNT2の寄与率およびそれ以外の輸送機構については不明である。本研究では、リバビリンの小腸吸収機構を明らかにするために、ラット小腸および培養ヒト腸上皮LS180細胞におけるリバビリン吸収に対するNa⁺および構造類似薬物の影響について評価した。

【方法】ラットを用いて *in situ* closed loop法によりリバビリンの小腸吸収に対するNa⁺の影響を評価した。また、LS180細胞における、[³H]リバビリン取り込みを測定し、速度論的解析を行った。さらに、[³H]リバビリンの取り込みに対するミゾリビンとイノシンの影響に加え、Na⁺および NBMPR の影響についても検討した。

【結果・考察】ラット小腸においてリバビリンの吸収は、Na⁺の有無に関わらず、良好であった。この吸収はイノシン併用により有意に低下した。LS180細胞において、[³H]リバビリンは経時的に取り込まれ、可逆的に細胞外に排出された。速度論的解析により算出されたリバビリンの流入・排出クリアランスは同程度であったことから、リバビリンの能動的な取り込みは大きくないと考えられた。[³H]リバビリンの取り込みは高濃度のリバビリン、ミゾリビン、およびイノシンによって有意に減少し、顕著なNa⁺依存性は認められなかった。また、Na⁺非依存性核酸トランスポーターENTの阻害剤であるNBMPRによって、[³H]リバビリンの取り込みは有意に減少した。以上の結果より、小腸におけるリバビリンの吸収にはCNTに加え、ENTが関与していると推定された。

I-2

α - リポ酸によるキトサン塩調製とその消化管内機能

○中村倫子、玉置万裕子、今城智美、磯部隆史、小藤恭子、村田慶史
(北陸大・薬)

補酵素の一種であるα - リポ酸 (ALA) 懸濁液中におけるキトサン (CS) 塩, ALA-CS の調製を試み, その消化管内機能について検討した。作製した ALA-CS の粉末 X 線回折結果より, 懸濁液中での塩形成が推察された。ALA-CS は胆汁酸溶液中, 速やかに ALA を放出すると同時にタウロコール酸を吸着したが, この現象は CS のイオン交換反応に起因すると考えられる。また, 二次胆汁酸であるタウロデオキシコール酸に関しても同様の結果が得られた。CS 分散条件下での塩形成は天然多糖類ゲルマトリクス中においても認められ, ALA-CS 固定化アルギン酸ゲルでは, 含有水分量にかかわらず各種胆汁酸の取り込みが観察された。以上, ALA-CS あるいは, その固定化ゲル製剤は, 消化管内で胆汁酸を取り込みながら ALA を放出することが期待される。我々はすでに, ALA の熱安定性が CS 塩とすることで顕著に向上することを確認しているが, 近年注目されている ALA の生理作用も含め, ALA-CS の新規機能性製剤素材としての可能性が示された。

I-3

高圧水流を利用した新規天然多糖類マイクロゲルの調製（その2）

○鈴木康之，井藤 俊，磯部隆史，小藤恭子，河島 進，村田慶史
（北陸大・薬）

アルギン酸ゲルビーズ（Alg-Ca）は優れた薬物保持担体であるが，完全な水系におけるマイクロ化はハイドロゲルにおいては極めて困難であり，実際，従来法においては，滴下シリンジ径を工夫しても，高分子溶液の粘性に起因した細粒化の限界を観察している。今回は，まず各種のモデル薬物を含有した Alg-Ca 乾燥ゲルの破碎によるマイクロ化を試みたが，ふるいにて分取した乾燥ゲルは粒子径に応じた薬物放出速度を示し，その径が $75\mu\text{m}$ 以下のゲルでは薬物の水溶性にかかわらず，速やかな放出挙動を示した。一方，超高圧ポンプ（50～245 MPa）を利用して調製した場合では， $100\mu\text{m}$ 以下のハイドロゲルが簡単に得られ，その乾燥ゲルでも急速な薬物放出が観察された。本法は薬物の種類にこだわらず応用可能であり，噴出圧や天然多糖類の種類やゲル化剤の濃度により，簡単に製剤粒子径を制御しうる方法であることが示され，医用素材の新規調製法として期待される。

I-4

グルロン酸ブロックを用いた高アンモニア血症予防製剤素材の検討

○遠山 光，磯部隆史，小藤恭子，河島 進，村田慶史
（北陸大・薬）

高アンモニア血症の治療法のひとつであるラクツロースの経口投与は，大腸 pH の低下により起こるアンモニア消化管吸収の抑制を利用するものである。天然多糖類アルギン酸の構成糖グルロン酸の重合体ブロック（GB）は，ポリアニオン性な性質を有していることから，我々はこれまでに，GB 固定化アルギン酸ドライゲルビーズ（GB-Alg-Ca(D)）による希アンモニア水並びに人工腸液の pH 低下作用について報告してきた。今回，人体への経口投与を考慮し，GB-Alg-Ca(D)を人工胃液中で 2 時間，続いて人工腸液中で 10 時間震とうし，GB-Alg-Ca(D)が人工腸液 pH へ及ぼす影響について調査した。また，ハイドロゲルを GB 固定化担体とした場合についても同様に検討した。その結果，人工胃液処理やゲルマトリクスの水分含量が GB-Alg-Ca(D)の pH 低下作用に影響を与えることが認められた。以上，GB-Alg-Ca(D)は胃液との接触を避け，また消化管腔内液のゲルマトリクス内への浸透抑制することで，より優れた製剤素材となることが示唆された。

中国瀋陽市における大気中多環芳香族炭化水素類の汚染現状と推移

徳田貴裕¹⁾、佐藤紘介¹⁾、田村憲治²⁾、唐寧¹⁾、亀田貴之¹⁾、鳥羽陽¹⁾、早川和一¹⁾¹⁾ 金沢大薬、²⁾ 国立環境研究所

中国は、20 年ほど前にスタートした改革開放路線により、毎年 10%を越える成長率で急速な経済産業発展を遂げてきた。しかし、その一方で著しい大気汚染を引き起こしてきたため、近年、中国政府は燃焼効率の低い石炭ボイラーの撤去や大気汚染物質が大量に排出する工場の郊外移転などの都市大気汚染低減策を積極的に推し進めるようになった。本研究室では、2001 年に中国東北地方最大の都市である瀋陽市で、主に石炭、石油などの化石燃料の不完全燃焼に由来して発生し、発がん性／変異原性を有するものを多く含む多環芳香族炭化水素類（PAHs）を対象とした調査を実施した。その結果、瀋陽市ではこれらの大気中濃度が金沢より 30～100 倍高く、主要発生源が石炭燃焼施設であることを明らかにした。

本研究では、中国で取られている環境対策の有効性を明らかにすることを目的として、瀋陽市で 2007 年 3 月 10 日～17 日（冬期）と 9 月 17 日～24 日（夏期）に、前回と同じ地点、同じ方法で、再調査を行った。その結果、大気中 PAHs 濃度は、冬期については両地点とも前回に比べて減少し、特に住宅地では顕著であった。しかし、夏期については両地点とも上昇傾向にあり、暖房用石炭ボイラー撤去などの環境対策が有効であった一方で、自動車による排気ガス粉じんの影響が現れ始めていると推察された。

Influence of adenosine deaminase inhibitor, erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine hydrochloride, on 5-HT_{2C} mRNA editing during the cultivation period in primary cultured cortical cells

Pham.T.N. Hang, Michihisa Tohda, Kizo Matsumoto

Div.of Medicinal Pharmacol., Inst.of Natl.Med., Univ.of Toyama, Sugitani 2630, Toyama 930-0194, Japan

The mRNA editing of the serotonin 2C receptor (5-HT_{2C}) is caused by adenosine deaminase-1 and -2 (ADAR-1 and ADAR-2), and has been reported to be involved in mental disorders such as depression and schizophrenia. We previously reported that the editing efficacy of 5-HT_{2C} mRNA and ADAR-2 pre-mRNA and the expression level of ADAR-2 pre/mRNA are altered during brain development in rats, suggesting that this enzyme may play a role in brain maturation. In this study, we evaluated the effect of erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine hydrochloride (EHNA), an inhibitor of ADAR, on 5-HT_{2C} mRNA editing and the expression levels of ADAR-1 mRNA, ADAR-2 pre/mRNA and MAP-2 mRNA in cultured cortical cells. Treatment of cultured cortical cells with EHNA (30 – 60 μ M) for 6 days significantly decreased the 5-HT_{2C} mRNA editing efficacies at the sites C and D but had no effect on the editing at sites A or B. This treatment also dose-dependently decreased ADAR-2 pre/mRNA and MAP-2 mRNA expression without affecting the expression of β -actin. The expression level of ADAR-1 mRNA was slightly reduced by EHNA (60 μ M) treatment for 6 days. These findings suggest that EHNA is a specific inhibitor of ADAR-2 in cultured cortical cells and EHNA is useful to clarify the psychiatric roles of 5-HT_{2C} mRNA editing.

がんワクチン療法における漢方アジュバントの創生

○小泉 桂一¹, 竹野 伸洋¹, 中西 剛², 櫻井 宏明¹, 中川 晋作³, 済木 育夫¹

1 富山大・和漢研、2 岐阜薬科大・薬、3 阪大院・薬

【目的】WT-1 ペプチドを初めとする種々のがん抗原が同定されつつある現在、がんワクチン免疫療法が再び注目されてきている。この療法の成否を握るのは、免疫したがん抗原特異的な細胞障害性を有するT細胞を誘導し、このT細胞により、がん細胞を排除できるかにかかっている。今後、このT細胞誘導の効率をあげる補助機能を有する物質、いわゆるアジュバントの創生が急務である。現在までに、漢方薬の基礎実験レベルにおいての抗がん効果の報告は多々あり、この効果機序は、漢方薬による自然免疫系の関与を示唆するものばかりである。本研究課題では、がん抗原免疫による獲得免疫を、漢方薬が果たして惹起できるのか、また、漢方薬ががんワクチン免疫療法における新たな経口可能なアジュバント(漢方アジュバント)として適応を調査する。

【実験方法と結果】まず初めに、in vitro 細胞培養系において、がんモデル抗原であるOVA(ニトリ卵白アルブミン)拘束性CTLクローン、CD8 OVA1.3細胞株を用いて、がん抗原特異的な細胞障害性を有するT細胞を誘導し得る漢方を探索した結果、十全大補湯にその効果があることを見出した。さらに、OVA発現マウスリンホーマEG7の皮下移植モデルにおいて、OVA免疫によるがんの増殖退縮効果は、十全大補湯の併用により顕著に亢進した。さらに、十全大補湯の併用群のマウスは、OVAのみを免疫した群と比較して、生存日数も有意に延長した。

【今後の展望】現在、OVA発現マウスメラノーマ細胞を使用した実験的肺転移モデルに関しても、十全大補湯の併用によるワクチン増強効果を検討中である。

一般講演（臨床講義室 II）

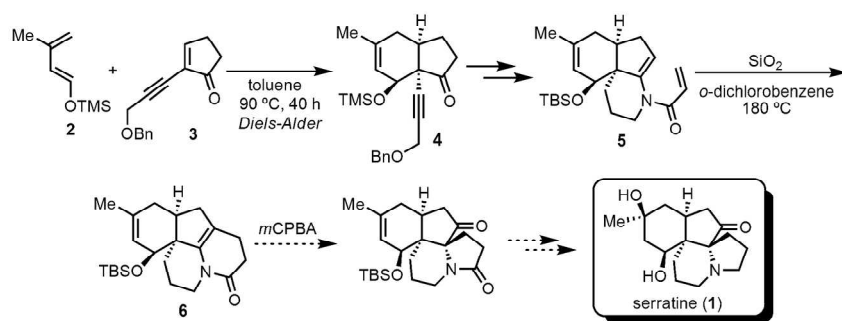
II-1

Serratine の全合成研究

○西出 洋志, 谷口 剛史, 石橋 弘行（金沢大院薬）

【目的】 Serratine (1) は 1968 年 Inubushi らによって *Lycopodium serratum* から単離, 構造決定された *Lycopodium* アルカロイドである. この化合物は, 合成化学的に非常に興味深い複雑な構造を有しているにも関わらず, その全合成は未だ報告されていない. そこで, 今回我々は serratine (1) の全合成を検討することにした.

【方法・結果】 ジエン 2 と側鎖に三重結合を導入したエノン 3 との Diels-Alder 反応により環化体 4 を得た. 化合物 4 から数工程で三環性化合物 5 へと導き, シリカゲル存在下加熱することによりエナミド 6 を得た. 現在, エナミドオレフィンの酸化に続くセミピナコール転位による骨格構築を検討中である.



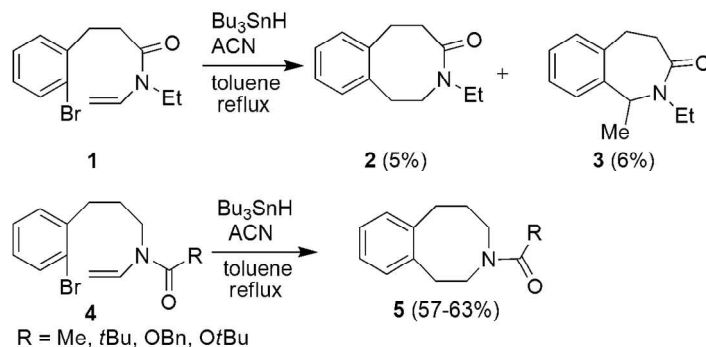
II-2

エナミドへの 8-endo 選択的アリールラジカル環化反応

谷口 剛史, ○材木 久晃, 石橋 弘行（金沢大院薬）

当研究室では, エナミドに対するラジカル環化反応の位置選択性を制御することを検討してきた. 今回, 我々はエナミドに対する 8-endo 選択的なアリールラジカル環化反応を新たに見出したので報告する.

エナミド 1 を還流トルエン中 ACN 存在下 Bu_3SnH で処理すると, 環化反応の選択性は見られず, 8-endo 環化体 2 および 7-exo 環化体 3 がそれぞれ低収率で得られるのみであった. 一方で, エナミド 4 を同じラジカル条件に付したところ, アリールラジカル の 8-endo 選択的な環化反応が進行し, ベンズアゾシン誘導体 5 が良好な収率で得られた.



II-3

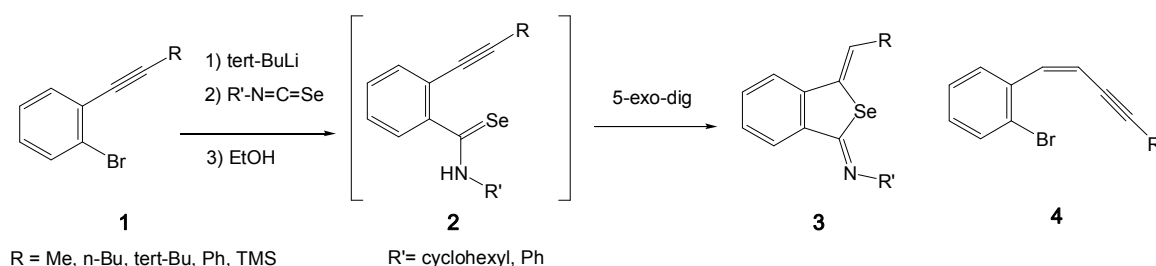
o-エチニルフェニルリチウムとイソセレノシアネートによる 含セレン複素環合成

○要 衛, 指田春喜

北陸大・薬

【目的】これまで我々は、カルコゲノール類の分子内三重結合による環化付加反応を利用する各種複素環合成を行ってきた。今回、カルバニオンに isoselenocyanate を作用させて、反応系中にセレノールを誘起させ、その環化付加反応を利用する複素環合成を検討した。

【実験および結果】o-ブromoエチニルベンゼン **1** をエーテル中、 -80°C で tert-BuLi によりカルバニオンとし、これに isoselenocyanate を作用させた。次にプロトン源として EtOH を添加したところ、予想通り環化反応が進行し、対応する 5-*exo-dig* 環化体 **3** が好収率で主成績体として得られた。現在、エンイン体 **4** についても環化反応を検討中である。



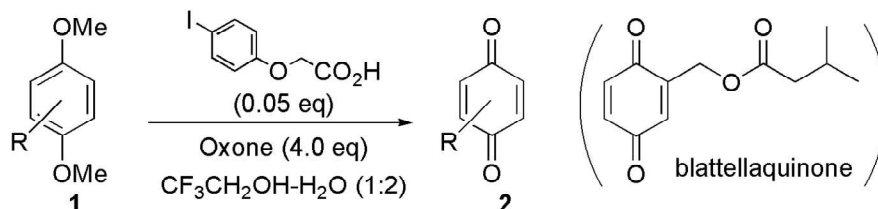
II-4

4-ヨードフェノキシ酢酸-オキソン系を用いるジメトキシベンゼン類から キノン類への触媒的超原子価ヨウ素酸化反応 (富山大院薬) 矢倉隆之, ○田 園, 山内 優

【目的】ジメトキシベンゼン類の酸化的脱芳香族化は複雑な天然物合成におけるキノン構築の有効な手法である。先に開発した 4-ヨードフェノキシ酢酸-オキソン系を用いる触媒的超原子価ヨウ素酸化反応の適用を検討する。

【実験結果】p-ジメトキシベンゼン類 (**1**) を $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (1:2) 中、室温で 0.05 当量の 4-ヨードフェノキシ酢酸および 4 当量のオキソンと反応させると短時間で対応する p-キノン (**2**) が高収率で得られた。本反応では用いる溶媒により反応性が大きく影響されることがわかった。さらに、本反応をジャーマン・コックローチの性フェロモンである blattellaquinone¹⁾ の合成に用いたところ、一般に広く用いられているセリウム塩 (CAN) よりも有効であった。

本方法の利点は、反応が温和で、生成物の分離や触媒の回収が分液操作のみで可能なことである。



1) Nojima S. et al., Science, **307**, 1104 (2005).

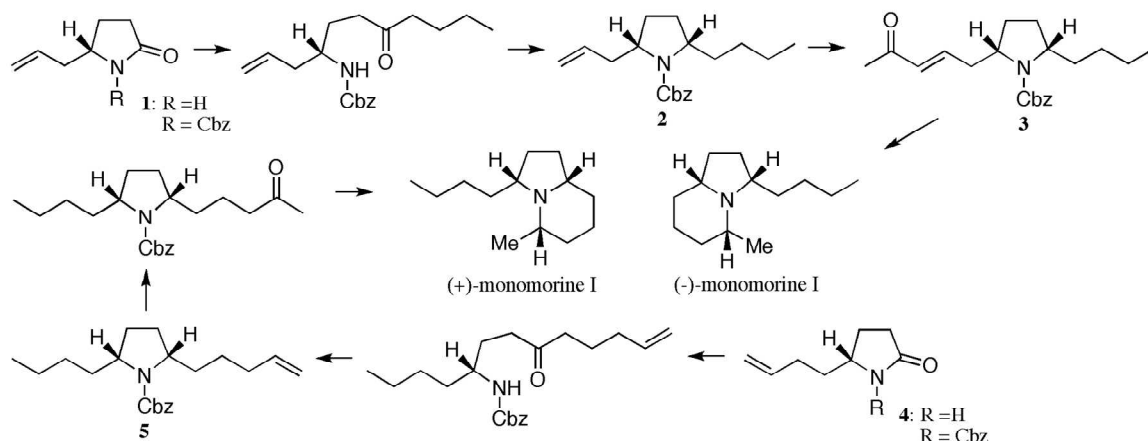
II-5

Monomorphine I 両対掌体の短工程合成

(富山大院薬) ○周 徳軍, 豊岡 尚樹, 根本 英雄

目的 L-グルタミン酸を共通のキラル素子として用い, アリから単離された monomorphine I の両対掌体の効率的な短工程合成法を確立する.

結果 市販のラクタム(1)を Cbz 化後 Martin 等の方法に従いシス置換ピロリジン(2)へと変換した. 次いで, cross metathesis 反応によってケトン(3)とし接触還元条件に付し (-)-monomorphine I を合成した. 一方既知のラクタム(4)から同様にシス置換ピロリジン(5)に導き Wacker 酸化後接触還元条件に付し(+)-monomorphine I を合成し, エナンチオダイバージェント合成法を確立した. (J. Org. Chem. 2008, 73, in press)



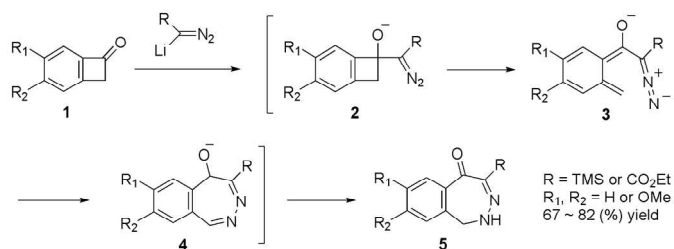
II-6

ベンゾシクロブテンの連続的電子環状反応による 2,3-ベンゾジアゼピン類の合成

(富山大院薬) ○片柳裕志, 松谷裕二, 根本英雄

【目的】我々は、これまでベンゾシクロブテン誘導体の熱開裂によるオルトキノジメタンの生成と、それに引き続く環化付加反応による様々な縮環化合物の合成について検討を行ってきた。最初の熱開裂は、シクロブテン環上の置換基により、その進行具合が大きく異なることが知られている。強力な電子供与性を有するオキシドアニオンは顕著な効果を示し、 -20°C 以下の低温にて反応性に富むオルトキノジメタンを生成する。この点に着目し、ベンゾシクロブテノン (1) とジアゾメチレン化合物との求核付加反応、それに続く電子環状反応という連続的変換により、2,3-ベンゾジアゼピン類 (5) を得ることを目的とし、検討を行った。

【結果】ベンゾシクロブテノン類 (1) を -78°C にてリチオ化した TMS-ジアゾメタンあるいはジアゾアセテートと反応させ、その後室温まで昇温させることにより、図に示す連続的変換が効率よく進行し、高収率にて 2,3-ベンゾジアゼピン類 (5) を得ることができた。



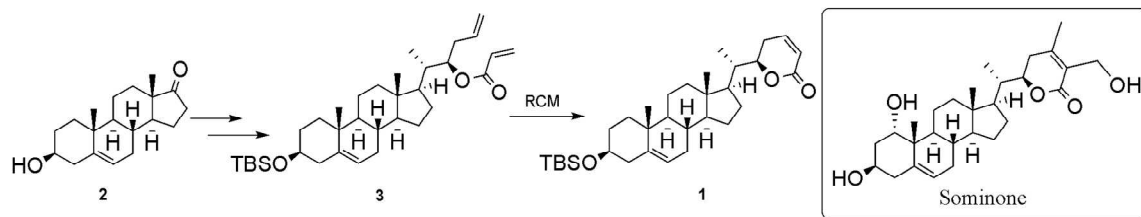
II-7

Withanolide 類の合成研究：Sominone モデル化合物の合成

○山川祐一郎、小野雅士、松谷裕二、根本英雄（富山大院薬）

【目的】 Withanolide 類はナス科の植物より単離された δ -ラク톤を側鎖に有するエルゴスタン型のステロイドであり、その誘導体には抗腫瘍作用や昆虫に対する摂食阻害作用などの生物活性を持つことが知られている。本研究では、その誘導体の1つである Sominone の構造活性相関を調べることを目的とし、そのモデル化合物の簡便な合成経路の開発について検討を行った。

【結果】 市販の化合物(2)から7工程を経由することによって、新たな不斉中心を有する化合物(3)を合成した。その後化合物(3)に閉環メタセシス反応（RCM）を用いることにより δ -ラクトン側鎖の構築に成功し、Sominone モデル化合物(1)の合成に成功した。今後は様々な置換基を有する RCM 前駆体の合成を検討し、閉環メタセシス反応を利用した Sominone およびその他の Withanolide 類の合成を達成する予定である。



II-8

単糖を強く取り込む大環状ヘテロ環オリゴマーの開発

○阿部 肇・黒川普之・井上将彦（富山大院薬）

我々はこれまで、ピリジン環の2,6-位をアセチレン結合を介して鎖状に連ねた「meta-エチニルピリジンポリマー」を、糖質を認識する人工ポリマーとして開発してきた。その骨格をもとに今回は、ヘテロ環を環状に連ねた分子を設計・合成し、糖質に対する認識能力を調べた。

環状六量体 **1**（右図）は、ピリジンあるいは 4(1H)-ピリドン環を合わせて6個有し、それぞれの環が持つ窒素がシソイド配座型に固定されている。水素結合性を持つ窒素部位が常に環の内側へ向くことで、その空孔を認識場として糖質のポリオール構造との親和性が高まることが期待された。まず **1** の大員環骨格の合成では、両末端にアセチレンを持つピリジン-ピリドン-ピリジン三量体同士の Glaser 反応を利用した。得られた **1** の CH_2Cl_2 溶液にオクチル β -D-グルコピラノシドを加えると錯形成による誘起CD が観察され、滴定実験よりそのときの会合定数は $3.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ と非常に大きな値であることが分かった。さらに過剰量のトリフルオロ酢酸を共存させた系では、オクチル α -D-フルクトピラノシドに対する親和性が通常の滴定実験では推計できないほど強められていることが分かった。

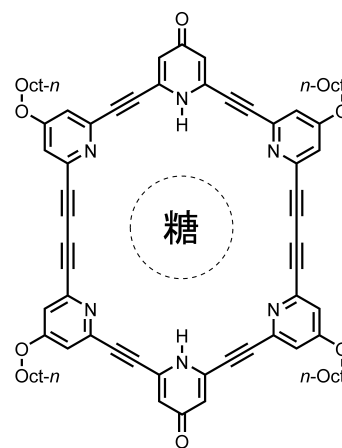
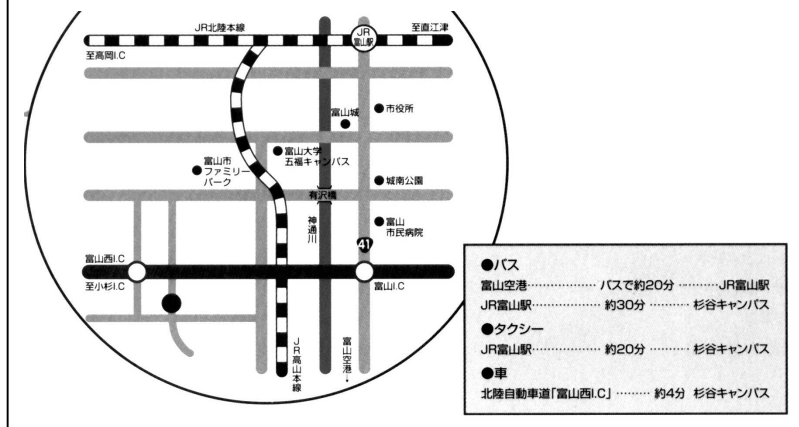
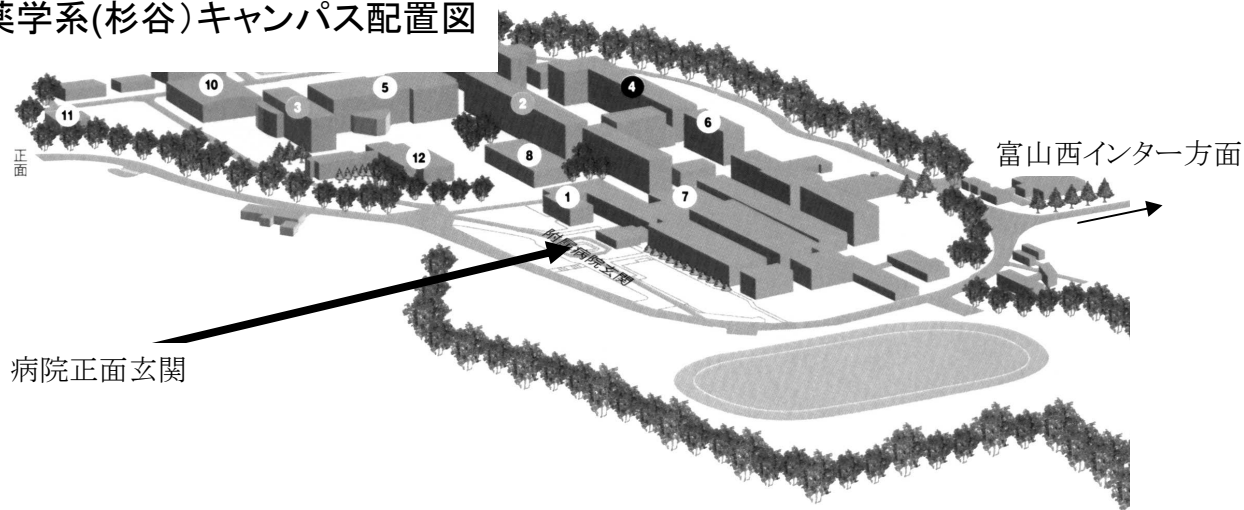


図 大環状オリゴマー **1**

富山大学医薬学系(杉谷)キャンパスまで



医薬学系(杉谷)キャンパス配置図



病院正面玄関

- 1. 管理棟
- 2. 医学部研究棟
- 3. 看護学科研究棟

- 5. 講義実習棟
- 6. 和漢医薬学総合研究所
- 7. 附属病院
- 8. 附属図書館(医薬学図書館)

- 9. 生命科学先端研究センター
- 10. 体育館
- 11. 武道館
- 12. 福利・厚生棟

例会会場案内図

病院正面玄関側

