

## 地域で取り組む禁煙治療のCDTMプロトコルの構築

○亀井美和子<sup>1</sup>, 渡邊文之<sup>1</sup>, 倉田香織<sup>2</sup>, 土橋 朗<sup>2</sup>, 篠原久仁子<sup>3</sup>, 原 和夫<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>東京薬大薬, <sup>3</sup>フローラ薬局, <sup>4</sup>昭和大薬)

**【目的】** 共同薬物治療管理 (Collaborative Drug Therapy Management, CDTM) は、特定領域の患者に対して医師と薬剤師が患者ケアに関する契約を結び、この契約をよりどころにしたプロトコル (治療計画) に従い薬剤師が患者の薬物治療を管理する仕組みである。本研究は、わが国において CDTM を導入することで有益なアウトカムを期待できる禁煙治療について、薬剤師による臨床判断の範囲の検討し、地域連携で実践するためのプロトコルを作成することを目的とした。

**【方法】** わが国の医療制度および医療環境で実施可能なプロトコルとするために、薬剤師と医師が参加するワークショップを開催した。治療ガイドラインおよび地域連携パスの叩き台を提示したうえで、SGD 形式により臨床判断の範囲等の契約内容を検討し、標準的なプロトコルを構築した。

**【結果】** 禁煙治療薬は、医師の処方に基づいて使用するものと一般用医薬品の両者があることから、プロトコルは一般用医薬品で治療を開始する場合と医療用医薬品で開始する場合の両者を作成した。薬剤師の役割として、治療対象者の選定、副作用発現に対するサポート、投与量の変更や臨床検査オーダー、適正使用モニタリングが挙げられ、プロトコルに反映した。

**【考察】** 地域ごとに禁煙治療を担う医師と薬剤師が協議し、合意のもとに連携パス等を作成し、医療機関での治療と一般用医薬品による自己治療のいずれにおいても医師と薬剤師が連携できるような体制を構築することが有益であると考えられた。

## 地域で取り組む在宅糖尿病治療のCDTMプロトコルの構築

○渡邊文之<sup>1</sup>, 亀井美和子<sup>1</sup>, 倉田香織<sup>2</sup>, 土橋 朗<sup>2</sup>, 篠原久仁子<sup>3</sup>, 原 和夫<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>東京薬大薬, <sup>3</sup>フローラ薬局, <sup>4</sup>昭和大薬)

**【目的】** 共同薬物治療管理 (Collaborative Drug Therapy Management, CDTM) は医師と薬剤師が特定の患者に対して患者ケアに関する契約を結び、この契約をよりどころにしてプロトコル (治療計画) に従って、薬剤師が患者の薬物治療を独自に管理するものである。米国では CDTM により薬剤師の裁量で優れた薬物治療が行われ、多くのアウトカムを生み出している。そこで、地域連携で実践するためのプロトコルを作成することを目的とした。

**【方法】** CDTM ワークショップを開催し、CDTM に関する説明を行った後、模擬プロトコルの作成を目的とした SGD を行い、臨床判断の範囲等の契約内容を検討し、標準的なプロトコルを構築した。

**【結果】** ワークショップの SGD では「薬局が主体的に行う在宅糖尿病治療」をとりあげた。薬剤師の役割として投与量の変更や臨床検査オーダー、適正使用モニタリングに関する項目が挙げられ、模擬プロトコルを作成した。

**【考察】** 糖尿病患者の薬学的管理については地域連携パスの導入などに従い、わが国においても積極的に実践されている。在宅医療では医師不在の状況で発見される患者の問題も多いと予測される。こうした問題に迅速に対応していくためにも地域連携パスなどの仕組みを活用した取り決めが重要であると推察された。今後は、このプロトコルを薬局にて実践し、成果を検証していきたい。

## 3次元HPLCパターン分析を用いたプロポリスの成分分析

○野伏康仁, 安川 憲

(日大薬)

**【目的】** プロポリスは古代エジプト時代や古代ギリシャ時代から、抗菌活性などの生物活性が注目され民間伝統薬として利用されている。プロポリスは日本では健康食品として取り扱われ、市場ではブラジル産プロポリスが90%程度占めている。植物の新芽や樹皮などから作られた樹脂状の固形天然物であるプロポリスは、産地や地域により構成成分および効能が異なることが知られている。市販されているブラジル産プロポリスの品質を評価するために成分分析が重要であると考え、フォトダイオードアレイ検出器(PDA)を用いて3次元HPLCパターン分析を行った。

**【方法】** ブラジル産プロポリスは乾燥した後、それぞれ20 mg/mLになるようにメタノールで溶解し調製した。HPLC装置には、日本分光(株)製LC-2000 Plus シリーズ、検出器はMD-2015 PDAを用いた。検出波長は200-500 nmを採用した。カラムにはMightysil RP-18 GP II column (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)を40℃で用いた。移動相は、移動相A: 0.5% 酢酸、移動相B: アセトニトリルを用いてグラジエント分離した。流速は1.0 mL/min、注入量は10 μLとした。

**【結果及び考察】** 「グリーンプロポリス」と呼ばれるブラジル産プロポリスには、アルテピリン C が豊富に含まれていることが知られている。今回、グリーンプロポリスと表示している商品にアルテピリン C が含まれていないものが存在した。市販されているブラジル産プロポリスの品質を保証するために分析評価を行うことが重要であり、本実験系が有効な方法だと考えられる。

## 「メートルグラス」、「メートルガラス」の語原を探求する

○中村 均<sup>1</sup>, 布施智子<sup>2</sup>, 小池勝也<sup>1</sup>, 濃沼政美<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

**【研究背景】** これまで、「メートルグラスハ和蘭語 Meetglas ヨリキタモノデ之ヲメートルグラスト稱スルハ誤デア」と言われてきた。しかし、今日では「メートルグラス」、「メートルガラス」、「液量計」と様々に呼ばれている。そこで、これらの語原を探求し、「メートルグラス」の呼び方の正当性を検証する。

### 【これまでの調査結果】

1. 和蘭字彙(1866年)には、maat 升・尺度、日蘭辞典(1934年)には、ekiryō→maat の記述があった。オランダ語辞典(1994年)には、maatglas 計量グラスの記述はあるが、meetglas はなかった。
2. メートルガラスは、「仏語 metre+英語 glass」の和製語らしい。
3. 1830~1844年の加賀屋引札(現在の商品カタログ)には、「メートルガラス」と記述されていた。
4. 1886年、日本がメートル条約に加盟し、1891年、度量衡法が公布される。1892年に刊行された調剤術講本(初版)には、「液量器」、「メートルガラス」と記述されていた。

### 【これまで判明したこと】

1. オランダ語では、Meetglas (メートルグラス) より Maatglas (メートルガラス) が適切ではないのか。
  2. 今回の調査で記述が最も古かった加賀屋引札には、「メートルガラス」となっている。
  3. メートル条約加盟後に刊行された調剤術講本(初版)では、メートルガラスの記述になっている。
- 以上のことから、これまでの調査では「メートルグラスハ和蘭語 Meetglas ヨリキタモノデ之ヲメートルグラスト稱スルハ誤デア」との確証は得られなかった。

# 医療事故に対する学生の意識傾向を把握した リスクマネジメント教育とその効果の検証

○濃沼政美<sup>1</sup>，花岡峻輔<sup>2</sup>，中村 均<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬，<sup>2</sup>日大薬学生)

**【目的】**医療事故例を題材としたリスクマネジメント教育において、2009年度と2010年度のSGDにより得た成果物から、医療事故に対する学生の意識傾向を比較し、学生の意識傾向を教員が把握した上で実施した医療リスクマネジメント教育が、教育効果にどのような影響を及ぼすかを検証する。

**【方法】**2009年度に実施した先行研究において、学生（6年制4年次）は医療事故の原因を「医師」や「医療従事者」など人の問題を重要と捉え、「勤務体制」や「安全管理」などの問題をあまり重要と捉えていない傾向がわかった。また、「薬剤師」を事故の重要な原因とした傾向は極めて低かった。そこで、2010年度は2009年度と同じ教員がこの傾向を把握した上で講義を行ない、同じ医療事故例を題材に、事故原因解明を目的としたSGDを実施した。ここで得た成果物に対し、先行研究と同様な解析を加え、事故原因として抽出されたキーワードの重要度について2009年度と比較した。なお、有意差検定にはWilcoxonの順位和検定を用いた（有意水準：0.05）。

**【結果・考察】**2010年度と2009年度の成果物を比較解析した結果、事故原因の重要度（累積和）は、主に「薬剤師」、「勤務体制」が上昇し、「オーダリングシステム」等のキーワードは下降した。また、「医師」を事故原因の高順位とする傾向が有意に減り、「勤務体制」を高順位とする割合が有意に高くなった。これにより学生の意識を分析・把握した上で医療リスクマネジメント教育を行うことで、医療における「薬剤師」の重要性など、教員の医療事故防止に対する意図を反映した教育効果を得られることが検証できた。

## リツキシマブ投与による Infusion Reaction 発現因子の検討

○林宏行<sup>1</sup>，鈴木 慎一郎<sup>2</sup>，川井正宏<sup>2</sup>，安島秀友<sup>2</sup>，濃沼政美<sup>1</sup>，中村均<sup>1</sup>，斎藤秋雄<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬，<sup>2</sup>聖マリアンナ医科大横浜市西部病院)

**【目的】**リツキシマブは非ホジキンリンパ腫に対し標準的に用いられるが、Infusion Reaction (IR)を高頻度に発現する。重度のIRは患者の苦痛となり、投与時間の増加にもつながる。そこで、リツキシマブによる重度なIRの発現因子を検討するためコホート研究（後ろ向き）を行った。

**【方法】**2009年2月から2011年2月の間でリツキシマブ施行症例を対象とし、入院診療録より初回導入時の情報を収集した。調査項目はIRの発現有無および施行前の患者背景、臨床検査値等とした。IRの重症度はCTCAE v4.0の「アレルギー反応」を用いて判定した。Grade2以上のIRの発現因子を探索するため、単変量解析を行った後、多変量ロジスティック回帰分析を行った。

**【結果】**リツキシマブを施行した症例は75例であり、IRを発現した症例は41例(54.7%)であった。Grade別では、Grade2以上は22例(29.3%)、Grade3以上は3例(4.00%)であった。メチルpredニゾロン等のステロイド注射薬を前投与に用いたのは6例であった。Grade2以上の発現に影響を与えた項目(p<0.10)はWBC15000以下、リンパ球8%以上、ステロイド静注の前投与の有無、レジメンに含まれるステロイド量が挙げられた。多変量ロジスティック回帰分析を行った結果、リンパ球8%以上(p=0.03)、ステロイド注射薬の前投与の有無(p=0.03)が有意に影響を与える項目として抽出された。

**【考察】**リンパ球が8%以上、またステロイド注射薬を前投与していない症例において、Grade2以上のIR発現が惹起されることが確認された。これらの医学的な根拠について、更に検討すべきと考える。

## 尿中メチルグアニジンの炎症マーカーとしての可能性 —潰瘍性大腸炎患者尿を用いた検討—

○山中健三<sup>1</sup>，加藤孝一<sup>1</sup>，立川眞理子<sup>1</sup>，浦野 敦<sup>1, 2</sup>，真坂 亙<sup>2</sup>，鈴木康夫<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬，<sup>2</sup>東邦大医療センター佐倉病院薬剤科，<sup>3</sup>消化器内科)

**【目的】**種々の炎症性疾患では炎症に伴い活性酸素種が生成する。慢性腎不全患者では炎症に伴い血中および尿中メチルグアニジン(MG)が上昇し、C 反応性蛋白(CRP)に代わる有用性の高い炎症マーカーと考えられることから、MGには他の疾患や病態に対応した炎症マーカーとしての役割が期待される。今回、潰瘍性大腸炎患者の病態把握マーカー検索の一環として、尿中のMGを測定し、病態や炎症に起因し変化する諸因子とMGとの関連について検討を行ったので報告する。

**【方法】**インフォームドコンセントを得た潰瘍性大腸炎患者より採尿し、MGをPhenanthren quinoneの蛍光誘導体としてHPLC(カラム：Guanidinopak IIP)により検出測定した。同時に尿中のクレアチニン(CRN)濃度を吸光光度法により測定した。また臨床情報より炎症マーカーであるCRP、白血球数、CRN濃度、および便回数といった検査値や患者情報を得てその関連性について検討を行った。

**【結果・考察】**患者の尿中のMG濃度は、0.18–8.67 (3.04±2.39) nmol/mL(n=19)であった。この値とCRP値もしくは白血球数の間では有意な相関は得られなかった。この一因としてCRPや白血球数には重複する他の炎症や薬剤による影響が考えられた。MGの生成要因としてCRNと活性酸素種( $\cdot\text{OH}$ )の反応が考えられるため、尿中CRN値との相関を見たところ、高い相関が見出され、炎症由来の活性酸素種生成のマーカーとなりうる可能性が示唆された。

## クレアチニクロラミンの細胞障害性

○立川眞理子，加藤孝一，山中健三

(日大薬)

**【目的】**慢性腎不全患者の炎症マーカーとしては血中および尿中の5-ヒドロキシクレアチニン(クレアトール、CRT)とメチルグアニジン(MG)の上昇が知られている。この機序として炎症に伴い生成する活性酸素種ヒドロキシルラジカル( $\cdot\text{OH}$ )によりクレアチニン(CR)が酸化され、CRTを経てMGが生成することが明らかになっている。一方、炎症での好中球の遊走からは次亜塩素酸(HOCl)が生じ、CRからクレアチニクロラミン(CR-Cl)とCRTすることが考えられる<sup>1)</sup>。そこで、CR-Clの生体作用を明らかにするため、CR-Clの細胞障害性についてHOClおよびアンモニアクロラミン類(NH<sub>2</sub>Cl、NHCl<sub>2</sub>)との比較検討を行った。

**【方法】**各クロラミンはCRおよびNH<sub>4</sub>Cl水溶液とNaOClから調製し、DPD法により生成濃度の確認を行った。BALB/3T3細胞を用い、培養培地をハンクス液に置換した後、濃度の異なる各クロラミン溶液に5-10分曝露した。トリパンブルーを用いた色素排除法とMTT法により細胞の生存率を求めた。また曝露後直ちに培地を戻して培養し、コロニー形成阻害率を求めた。

**【結果・考察】**色素排除法におけるHOCl、NH<sub>2</sub>ClおよびCR-Clの50%細胞生存濃度はそれぞれ0.8、0.45および8 mMであり、クロラミン形成による細胞毒性の増加と減少が観察された。MTT法でも同様な傾向を示した。コロニー形成阻害試験法では細胞に対する各塩素剤の影響がより鋭敏に検出され、50%阻害濃度はNH<sub>2</sub>Clでは2 μM、HOClとCR-Clではそれぞれ50および60 μMであった。これらよりCR-Clは比較的弱い細胞障害性を持ち、HOClの作用を減じる可能性が示唆された。

# アセチルフェルラ酸を結合させた5-アミノサリチル酸誘導体のマウス大腸炎抑制機序について

○加藤孝一，立川真理子，山中健三  
(日大薬)

**【目的】** 5-アミノサリチル酸(5-ASA)に抗酸化作用を有するアセチルフェルラ酸をアミド結合させた誘導体は、経口投与によりデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)で惹起したマウス大腸炎を有意に抑制することをこれまでに明らかにしている。今回、この誘導体の腹腔内投与による炎症抑制効果を経口投与の場合と比較し、加えて、潰瘍性大腸炎の治療薬である5-ASA誘導体、salazosulfapyridine(SASP)の炎症抑制効果との比較を行い、作用機序を検討した。

**【方法】** 1.5% DSSを10日間飲水摂取させ作製した大腸炎マウスに対しアセチルフェルラ酸-5-ASA誘導体、アセチルフェルラ酸ならびにSASPをカルボキシメチルセルロースに懸濁し、それぞれを1日1回9日間腹腔内投与し、経口投与の場合と比較した。投与期間中、下痢および下血の有無を観察し、投与終了時にマウス大腸組織切片を作製して炎症局所に浸潤する好中球数等により炎症を詳細に評価した。

**【結果および考察】** アセチルフェルラ酸-5-ASA誘導体は、経口投与により大腸炎の指標である下痢および下血症状ならびに炎症局所に浸潤する好中球数を有意に抑制したが、腹腔内投与では抑制しなかった。また、SASPの腹腔内投与も大腸炎を抑制しなかった。これらのことから、アセチルフェルラ酸-5-ASA誘導体の大腸炎抑制作用は、SASPと同様に腸内細菌の関与が推察され、5-ASAとアセチルフェルラ酸の遊離が炎症の抑制に寄与する可能性が示唆された。

# Ca<sup>2+</sup>透過性イオンチャンネルを阻害する新規化合物の開発研究

○益子 崇，三宅宗晴，木澤靖夫，草間 貞  
(日大薬)

**【目的】** アミロライド感受性Na<sup>+</sup>チャンネルであるacid-sensing ion channel 1a(ASIC1a)やグルタミン酸受容体であるN-methyl-D-aspartate receptor(NMDAR)などのCa<sup>2+</sup>透過性を有するイオンチャンネルは、アシドーシスやグルタミン酸毒性などにより過剰に活性化することで脳虚血時の症状増悪に関与する。また、ASIC1aの活性化は細胞膜の脱分極を誘発することでNMDAR活性を亢進させることやNMDARが間接的にASIC1a活性を亢進することが報告されている。さらに、アミロライドはASIC1a活性だけでなく、弱いながらNMDAR活性をも抑制した。そこで、本研究ではアミロライドと構造的類似性を持つビッグアニド誘導体を新規に合成し、ASIC1aやNMDAR活性などに対する阻害効果について検討した。

**【方法】** ASIC1a、AMPAまたはNMDARのcRNAを鋳型として、T3またはT7 RNAポリメラーゼを用いて、capped RNAを合成し、アフリカツメガエル卵母細胞に注入した。ASIC1a、AMPAまたはNMDAR活性に対するビッグアニド誘導体の影響はXenopus発現系を用いた二電極膜電位固定法にて測定した。

**【結果・考察】** ピラジンとベンゼンを有する新規合成ビッグアニド誘導体のMS-441はアミロライドよりも強くASIC1a活性を阻害し、弱いながらNMDARに対しても阻害傾向を示したが、AMPA活性に対しては影響を示さなかった。このMS-441のベンゼンに電子供与基を付加しても阻害に顕著な違いは観察されなかったが、ハロゲンなどの電子求引基を付加することでNMDARに対しても顕著な阻害作用が認められるようになった。

# 肝臓特異的 AhR 欠損マウスの高脂肪食誘導による脂肪肝発症メカニズム

○和田 平<sup>1</sup>, 白崎春野<sup>2</sup>, 内山由貴<sup>2</sup>, 須永 洋<sup>2</sup>, 篠塚達也<sup>2</sup>, 榛葉繁紀<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

AhR はダイオキシンなどの芳香族炭化水素をリガンドとする受容体型転写因子である。AhR は異物代謝制御に関与していることに加え、近年、脂質代謝を制御していることが示唆されている。そこで本研究では肝臓特異的 AhR 欠損 (AhR LKO) マウスを用いて脂質代謝調節における AhR の役割を解析した。

AhR LKO マウスを高脂肪食下において飼育したところ、コントロールマウスに比較して肝臓における脂肪蓄積の増大および肝障害の亢進が観察された。また、脂質代謝関連遺伝子の発現量を検討したところ、脂肪酸合成酵素の発現量の増加が示された。これらの AhR LKO マウスにおいて観察された表現型が SOCS3 LKO マウスのそれと類似していること、さらには AhR LKO マウスにおける SOCS3 発現量が著しく減少していたことから、次に AhR による SOCS3 遺伝子の転写調節を検討した。SOCS3 遺伝子のプロモーター領域に存在する AhR の結合サイト (XRE) への直接的な結合が EMSA および ChIP assay により確認された。またこの XRE を含む SOCS3 リポーター遺伝子を用いて転写活性を検討したところ、AhR 依存的にプロモーター活性の増加が認められた。これらのことから、SOCS3 遺伝子が新規の AhR 標的遺伝子であることが示された。また AhR 活性化による SOCS3 発現量の増加は、IL-6 誘導の STAT3 のリン酸化を著しく抑制したことから、AhR による SOCS3 遺伝子の転写制御が生理学的にも重要であることが示された。以上の結果より、肝臓 AhR は SOCS3 遺伝子の発現制御を介して、脂質代謝ならびに炎症の進行に深く関与していることが明らかとなった。

# 家族性筋萎縮性側索硬化症トランスジェニックマウスに対する *Crocus sativus* L.フラクシオンの発症遅延効果と有効成分について

○草間國子<sup>1</sup>, 牧野三津子<sup>2</sup>, 池上文雄<sup>3</sup>, 北中 進<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬研究員, <sup>3</sup>千葉大学環境健康フィールド科学センター)

本学の化合物・フラクシオンライブラリーを利用して運動神経変性疾患治療薬の検索を行ってきた。スクリーニング系として、家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) トランスジェニックマウス・細胞、ニューロラチリズムモデルラット・細胞を使用した。FALS は進行性に上位および下位運動神経の選択的変性脱落を生じる疾患である。原因遺伝子の一つである superoxide dismutase (SOD)1 の変異体は実験的に *in vivo*、*in vitro* で運動神経の変性脱落を引き起こす。一方、ニューロラチリズムは豆の毒素により運動神経が選択的に脱落するもので主な機序は興奮毒性であるが、酸化的ストレスの寄与が大きいという特徴がある。

サフラン *Crocus sativus* L. は薬用植物、スパイス、香料として利用されてきたが、有効成分 crocin や safranal には向神経作用に関する報告も多い。サフランの粗アルコールエキスから出発し SOD1G93A による n2a 細胞死を抑制する効果の高かったブタノール画分をさらに逆相クロマトグラフィーで分画した一画分に高い抑制活性が認められた。そこで 50 g のサフランより約 1.0 g 得られた同画分について FALS マウスにパイロット実験として投与実験 (75 mg/kg, p. o.) を行った。その結果、運動能力低下の明らかな遅延ならびに生存日数が対照に比べ約 16.5 日延長することがわかり、さらに本画分中の主要成分の構造 (既知物質) を決定できた。併せて行った resveratrol 等の一連の既知天然物の神経保護作用 (*in vitro*、*in vivo*) についても報告したい。

## 多剤耐性遺伝子 MDR1 の転写を抑制する Indirubin 誘導体の解析

○小林俊亮<sup>1</sup>, 大橋祥世<sup>1</sup>, 田中 融<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大院薬)

多剤耐性遺伝子 MDR1 の転写には、プロモーター領域に存在する逆向き CCAAT 配列を介した転写因子 NF-Y の関与が知られている。我々は NF-Y の DNA 結合性に影響を与える化合物をスクリーニングし、5-Methoxy 置換基をもつ Indirubin 誘導体は NF-Y の DNA 結合性を阻害し、3'-Oxime 置換基をもつ Indirubin 誘導体は NF-Y の DNA 結合性を増大させることを見出した。MDR1 遺伝子プロモーター活性に対するこれらの化合物の効果を調べるために、いくつかの細胞種について、MDR1 遺伝子の逆向き CCAAT を含む近位プロモーターをつないだ GFP 遺伝子の蛍光を指標としたレポーターアッセイを行った。MCF7、HepG2、C2C12 などの細胞に対して 1~5  $\mu$ M で MDR1 プロモーター活性の阻害が見られ、それぞれの Indirubin 誘導体の効果には細胞選択性があることがわかった。さらに、新たな Indirubin 誘導体として 3'-Epoxy 体の神経芽腫における MDR1 発現に対する影響を調べてみたところ、0.25  $\mu$ M で転写抑制効果が観察された。これらの Indirubin 誘導体は、濃度依存的な腫瘍細胞障害性を示すが、その過程で NF-Y の活性阻害による MDR1 の発現抑制も起こっていると考えられる。これらの化合物は、がん細胞の薬剤耐性に対する有効な阻害物質である可能性がある。

## 腫瘍細胞において YB-1 の核移行を阻害する化合物のスクリーニング

○大橋祥世<sup>1</sup>, 田中 融<sup>2</sup>, 小林俊亮<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大院薬)

YB-1 は DNA 及び RNA に結合し、転写や翻訳調節を行う多機能タンパク質である。正常細胞では、YB-1 は細胞質に存在するが、がん細胞では抗がん剤処理や UV 照射など遺伝子に対するストレスを受けると、YB-1 は細胞質から核へ移行することが知られている。実際に、乳がん、卵巣がん、肺がんなどにおいてがんの増悪に伴い、YB-1 の核移行が確認されている。そのため、YB-1 の核への蓄積が、がんの診断や予後の指標になると言われている。したがって、YB-1 の核移行を阻害することは重要であると考えられ、核移行を阻害する因子を探求する事は YB-1 をターゲットとした新たながんの診断・予防・治療方法の開発につながる可能性があり大変興味深い。そこで、本研究は、アクチノマイシン D (以下 ActD) 処理により YB-1 が細胞質から核へ移行する系の検討と、様々なタンパク質と相互作用することが知られている Indirubin 関連化合物について YB-1 の核移行に対する影響を調べてみた。

# インドメタシンとリドカインの複合体の物性

○伴野和夫<sup>1</sup>, 深水啓朗<sup>1</sup>, 伊藤 輝<sup>2</sup>, 高梨佑貴<sup>2</sup>, 鈴木豊史<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

**【目的】** インドメタシン (IDM) とリドカイン (LDC) は複合体を形成し、経皮吸収製剤に応用すると、極めて優れた皮膚透過性を示すことを報告してきた。今回は、この複合体の物理化学的物性を明らかにすることを、目的として研究を行った。

## 【実験方法と結果】

**複合体の溶解度の測定** 粉末状の IDM と LDC を等モルスクリュウキャップ付き試験管にとり、精製水を加えて、5、15、25、35°C の条件で 6 日間振盪した後、0.45  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過し HPLC により IDM と LDC を分離定量した。その結果、15°C で最も高い溶解度を示し、25°C では 15°C の 18% 程度しか溶解しないことが明らかとなった。結晶複合体については静置円盤法により、5、10、20°C における初期の変化量より溶解度を求めた。その結果 5°C で 1.17mmol/L、10°C で 1.59mmol/mL、20°C で 1.40mmol/mL の溶解度を得た。

**複合体の熱力学的検討** 5、7、10°C の 3 条件で Higuchi-Connors の方法に従って溶解度相図を作成し、安定度定数の対数と絶対温度の逆数をプロットしエンタルピー ( $\Delta H$ ) とエントロピー ( $\Delta S$ ) を求めた。その結果、およそ  $\Delta H=384.65\text{kJ/mol}$  と  $\Delta S=1388.03\text{J/mol deg}$  の値を得た。

**【結論】** IDM と LDC の複合体は温度の上昇とともに溶解度が上昇するものの、20°C を超えると複合体の精製率の下がるのがわかった。また、 $\Delta S$  が正の値を取ったことから、疎水結合が複合体形成の駆動力と考えられた。

# アセトアミノフェンが形成する Cocrystal の物理的安定性

○深水啓朗, 伴野和夫

(日大薬)

**【目的】** 塩および Cocrystal の形成は、原薬の物性を改善できる結晶形態として注目されている。本研究では、アセトアミノフェン (APAP) をモデル薬物として、APAP と 1:1 の化学量論比で結晶性の複合体を形成するマレイン酸 (MLA) およびシュウ酸 (OXA) の系に着目し、いずれの複合体が優先的に形成されるのか、即ち APAP 分子との親和性について検討し、複合体の物理的安定性を比較した。

**【実験方法】** APAP、MLA および OXA を乳鉢で混合 (モル比 1:1:1) し、物理的混合物を調製した。混合粉碎ならびに 4 種類の溶媒を用いて複合体を調製し、粉末 X 線回折法により得られた混合物の結晶状態を評価した。

**【結果および考察】** APAP、OXA および MLA を含む 3 成分系について室温での混合粉碎を行った結果、15 分までは APAP-OXA および APAP-MLA の複合体形成が同時に進行しているような回折パターンが認められたものの、30 分以降では APAP-MLA 複合体に由来する 17° 付近の回折ピークが顕著となった。一方、溶液からの溶媒留去によって析出する結晶相について検討したところ、メタノールおよびエタノールのような極性のプロトン性溶媒からは APAP-MLA 複合体、アセトニトリルおよび酢酸エチルのような非プロトン性あるいは低極性の溶媒からは APAP-OXA 複合体による回折パターンが観察された。OXA および MLA の  $\text{pKa}_1$  は、それぞれ約 1.3 および 2.0 であり、各溶媒中における Coformer の溶解度あるいは電離状態が析出する結晶相に影響をおよぼしていることが推察された。また、混合粉碎の結果より、APAP-MLA 複合体の方が OXA と比較して安定であることが示唆された。現在、APAP-MLA 複合体の結晶構造について検討を行っている。



## 内因性アルデヒドを標的とした筋萎縮性側索硬化症治療薬開発の可能性

○伊藤芳久<sup>1</sup>, 小菅康弘<sup>1</sup>, 宮岸寛子<sup>2</sup>, 齋藤弘明<sup>1</sup>, 宮入伸一<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大院薬)

膜脂質過酸化のアルデヒド生成物である 4-hydroxynonenal (HNE) は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) やアルツハイマー病による神経細胞死に関係することが明らかになりつつある。本研究では、マウス由来神経様細胞 HT22 において HNE 誘発細胞死抑制作用を有することを見出している N-acetyl-L-cysteine (NAC) およびその誘導体である NAC amide (NACA) が、ALS モデルマウスであるヒト変異 superoxide dismutase 1 (hSOD1<sup>G93A</sup>) 導入マウス (G93A) の症状と生存期間に及ぼす影響について検討を行なった。

ALS の初期症状である対麻痺が出現し、HNE 付加タンパク質の増加が認められる 15 週齢の G93A に NAC および NACA を投与したところ、対照群と NAC 投与群の生存期間はほぼ同じで平均 135 日であったが、NACA 投与群の生存期間は平均 145 日となり、対照群や NAC 投与群と比較して有意に延長された。また、NACA の投与は、運動機能低下や運動ニューロンの減少を抑制するとともに、caspase-3 の活性体の発現を顕著に抑制した。以上より、NACA は、脊髄において亢進している caspase-3 を介する機構を抑制し、運動機能障害発症後にも保護作用を示す ALS 新規治療薬となる可能性が示された。

さらに、運動ニューロン様株化細胞である NSC34 細胞を用いて、新たなスクリーニング系の開発を行った。NSC34 細胞に HNE を曝露したところ、濃度依存的な細胞死が認められた。また、この細胞死は、NAC により顕著に抑制されたことから、HNE 誘発細胞死および ALS に有効な化合物を検索する新たな *in vitro* モデルとなることが示唆された。

## 小胞体ストレス誘発細胞死に影響を及ぼす化合物のスクリーニング

○小菅康弘, 齋藤弘明, 内山武人, 宮入伸一, 伊藤芳久

(日大薬)

小胞体の機能不全により生じるストレスである小胞体ストレスは、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、脳梗塞、アルツハイマー病などで認められる神経細胞死に関係することが報告されている。そこで、マウス海馬由来神経様細胞である HT22 細胞を用いて、小胞体ストレスの誘導薬の 1 つである Tunicamycin (TM) が誘発する細胞死に対して、多様な生理活性を持つことが知られている化合物である Indirubin を基本骨格とする誘導体 (51 種) が及ぼす影響を検討したところ、8 種の化合物に顕著な細胞死抑制作用があることが明らかになった。そこで、小胞体ストレス誘発細胞死において中心的な役割を果たす転写因子である C/EBP homologous protein (CHOP) の発現レベルに及ぼす影響を検討したところ、これらの 8 種の化合物は、TM 曝露による CHOP の発現上昇を顕著に抑制した。我々は、最近、抗腫瘍性抗生物質の Mithramycin が、CHOP の発現を抑制することにより脳梗塞モデルマウスで生じる神経細胞死を顕著に抑制することを報告している。以上の結果より、CHOP 発現抑制作用により細胞死抑制効果を示す一部の Indirubin 誘導体は、CHOP 発現上昇を伴う神経変性疾患の新たな治療薬となる可能性が示唆された。

また、内分泌攪乱物質として知られる 4-nonylphenol (NP) がヒト神経芽腫細胞 SH-SY5Y の生存率に及ぼす影響を検討したところ、NP は濃度依存的な細胞死を誘発した。同様に、NP の構造異性体 (15 種) が生存率に及ぼす影響についても検討したが、構造異性体の差による変化は認められなかった。今後は、これらの NP が誘発する細胞死に関与する経路を明らかにするとともに、保護薬の検索をする予定である。

# 細胞内銅イオン代謝異常は SOD1 変異に共通する

○小野真一<sup>1</sup>, 徳田栄一<sup>2</sup>, Marklund L. S<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>Department of Medical Biosciences, Clinical Chemistry, Umeå University, Umeå, Sweden)

**【背景】**筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は孤発性が大多数を占めるが、10%程度が家族性でその一部に SOD1 変異がある。変異 SOD1 が獲得した未知の細胞毒性が、運動ニューロンの変性の原因と信じられている。我々は SOD1 変異を有する ALS モデルマウス (G93A) で、細胞内への銅イオン取り込みが亢進、排泄が低下すべく、銅輸送体たん白質の挙動が変化していることを見出した<sup>1)</sup>。この知見に基づき、細胞内の銅イオンキレート剤 (Ammonium tetrathiomolybdate) や銅結合たん白質 (Metallothionein) が G93A マウスの ALS 様症状を顕著に改善することも確認した<sup>2)</sup>。以上の結果から、細胞内に限局する銅イオン代謝異常に起因する細胞内銅イオン蓄積を介した直接的または間接的な細胞毒性が、運動ニューロン死の原因として重要であることを提唱している<sup>1, 2)</sup>。G93A 以外の SOD1 変異においても同様の現象が観察されるか検討した。

**【方法】**4 種類 (G93A, G127X, G85R, D90A) のヒト SOD1 変異を持つ 4 種類のトランスジェニックマウス (Tg) を用いた。対照にはヒト wild-type SOD1 変異を持つマウス (SOD1<sup>WT</sup>) とマウス (N-Tg) を対照に用いた。

腰髄組織の銅イオン濃度は誘導結合プラズマ法により、銅輸送体たん白質発現量はウエツタンブロット法によった。統計は分散分析 (ANOVA) と Tukey's *post hoc* test により  $P < 0.05$  を有意と判断した。

**【結果】**銅イオン濃度は N-Tg  $1.13 \pm 0.04$ , SOD1<sup>WT</sup>  $1.83 \pm 0.08$ , G93A  $2.19 \pm 0.31$ , G127X  $1.53 \pm 0.13$ , G85R  $1.81 \pm 0.21$ , D90A  $2.24 \pm 0.13$  (mean  $\pm$  SD) で、SOD1<sup>WT</sup> を含めた Tg の銅イオン濃度は有意に増加していた ( $p > 0.001$ )。銅イオン濃度の増加は、SOD1 活性の低下している G127X と G85R よりも活性が保たれている G93A と D90A で顕著であった。

銅輸送体たん白質の発現は 4 種類の Tg 全てにおいて細胞内銅イオン取り込みに関与する Steap2、Ctrl、細胞内銅イオン輸送体 Atox1 で増加し、銅イオン排泄に関わる Atp7a で低下していた。

**【結論】**細胞内銅イオン代謝異常に起因する細胞毒性は G93A 変異に限った現象ではなく、SOD1 変異に共通する細胞毒性である。

参考文献 1) Tokuda et al. (2009) *J Neurochem* 111: 181-91.

2) Tokuda et al. (2008) *Exp Neurol* 213: 122-28.

# 神経芽腫に対する ferrearin 型ネオリグナンの抗腫瘍活性

○田畑恵市<sup>1</sup>, 葉山達也<sup>2</sup>, 西村由季<sup>3</sup>, 内山武人<sup>1</sup>, 鈴木 孝<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大医板橋病院, <sup>3</sup>日大薬学生)

**【目的】**神経芽腫は小児固形腫瘍のうち最も頻度が高く、進行症例では集学的治療によっても未だに予後が不良である。進行神経芽腫に対する有効かつ安全な治療薬の開発を目的に、これまで我々は天然物由来化合物を中心とした神経芽腫細胞に対する細胞傷害活性のスクリーニングを行ってきた。本研究ではブラジル産クスノキ科植物から抽出されたネオリグナン化合物を神経芽腫細胞に作用させ、抗腫瘍効果の検討を行った。

**【方法】**神経芽腫細胞は、IMR-32、NB-39、SK-N-SH、LA-N-1 を用いた。また、正常細胞との活性比較においてヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) およびヒト皮膚線維芽細胞 (HDF) を用いた。細胞傷害活性は MTT 法により行った。アポトーシス解析は Hoechst 33342 染色法およびフローサイトメトリーを用いた。タンパク質アレイによりアポトーシス関連タンパク質の発現変動を評価した。

**【結果および考察】**ブラジル産クスノキ科植物 (*Licaria puchury-major*) 由来の ferrearin C に顕著な細胞傷害活性が認められた。Ferrearin C による細胞傷害活性はアポトーシスの特徴を示し、HO-1 発現の寄与が示唆された。また、細胞傷害活性において ferrearin C とその誘導体の構造活性相関解析を行ったところ、furanocyclohexanone 構造における  $\alpha, \beta$ -不飽和カルボニル基とヘミアセタール構造が活性発現に重要であることが明らかとなった。本研究成果は、神経芽腫に対する有効かつ安全な新規治療薬開発において、有力なリード化合物を示すものである。

# チャバネアオカメムシ共生菌の基礎的性状の解析

○小林秀昭

(日大薬)

難培養微生物である昆虫共生菌を医薬探索資源として利用するため、これまでに我々は昆虫共生菌ゲノム DNA ライブラリーを作製し、本ライブラリーにおける昆虫共生菌遺伝子の発現について解析を進めてきた。その結果、昆虫共生菌の遺伝子群の一つ (*leu* オペロン) が大腸菌内で発現する可能性を示唆し、本ライブラリーが昆虫共生菌の遺伝子発現産物を探索するためのライブラリーとして利用できる可能性を示唆した。このように、昆虫共生菌のゲノム DNA ライブラリー化は一定の成果を収めたが、一方でその作製に多大の労力を要することが明らかとなり、昆虫共生菌の新たな利用法の開発が期待された。その一つの方法として、昆虫共生菌の培養法の確立が考えられた。昆虫共生菌を培養することができれば、他の培養可能な微生物と同様に、その培養液から有用な代謝産物などを探索することが可能となる。そこで今回、チャバネアオカメムシ共生菌をモデルに、ゲノム塩基配列を決定し、培養条件を検討するために有用と思われる情報について検索を行った。その結果、チャバネアオカメムシ共生菌の全ゲノム塩基配列をようやく決定することができ、その大きさは4百万塩基対であり、その中に5千個の遺伝子が予想された。次に、好気性・嫌気性に関係する遺伝子群について解析を行った。チャバネアオカメムシ共生菌は TCA サイクル (クエン酸回路) に関する遺伝子群を有し、好气的条件下で培養できる可能性が示唆された。今後は、栄養条件に関する遺伝子群についても解析を進め、チャバネアオカメムシ共生菌の培養法確立のための基礎的性状をより詳しく調べる予定である。

# 生薬由来の抗神経変性疾患素材の探索

○高松 智, 松崎桂一, 北中 進

(日大薬)

**【背景】** カロリー制限 (Caloric restriction CR) による NAD 依存性ヒストン脱アセチル化酵素 Sir2 の活性化・過剰発現は酵母や線虫の寿命延長に関与している。一方、哺乳動物の Sir2 ホモログである SIRT1 に関しては、CR による脳での発現レベルの増加、ポリグルタミン病の線虫モデルで Sir2 の過剰発現に伴う神経細胞死の抑制が報告されている。以上のことから SIRT1 の活性化による神経細胞保護の可能性が示唆されている。そこで本研究では、神経細胞保護を目的に SIRT1 を活性化する生薬成分の探索を行った。

**【方法・結果】** 各種生薬エキスをスクリーニングしたところ、リュウキの MeOH エキスに SIRT1 の活性化が認められ、その EtOAc 可溶性画分が最も高い値を示した (Fig.)。リュウキはその基原植物であるイヌホウズキ (ナス科) の全草で、利尿、解熱、強壮薬の他、抗炎症作用や抗癌作用の目的で漢方治療に使用される。現在、EtOAc エキスより活性本体の単離を行っている。

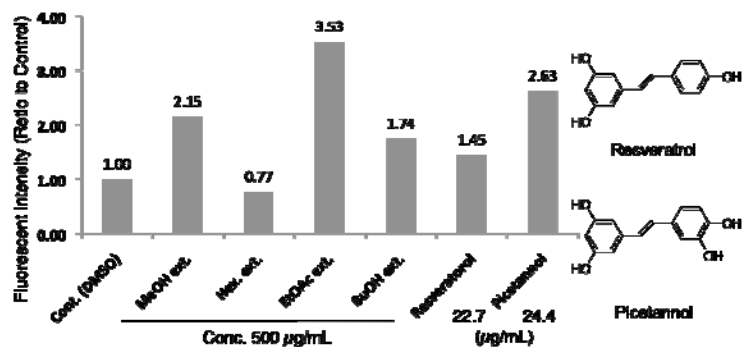


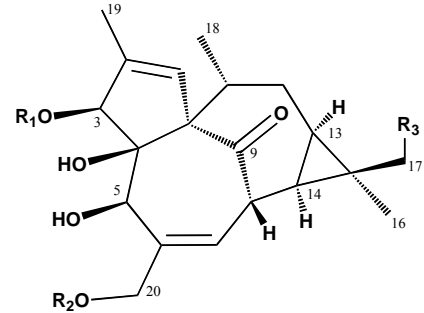
Fig. Effect of samples on SIRT1 activity

## Euphorbia 属植物の細胞周期調節成分の探索

○ 松崎桂一<sup>1</sup>, 北中 進<sup>1</sup>, 宮田昇平<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大文)

我々は、細胞周期を制御する物質の探索過程の一環で、甘遂(*Euphorbia kansui* Liou の根)より数種の ingenol 型および jatorophane 型ジテルペンを単離報告してきた。特に 3-*O*-2'*E*,4'*Z*-decadienoylingenol (**1**), 3-*O*-2'*E*,4'*E*-decadienoylingenol (**2**), および 20-*O*-2'*E*,4'*Z*-decadienoylingenol (**3**)等の 3-または 20-アシル誘導体は活性が顕著であり、特に **3** については乳癌由来 MCF-7 細胞に対して特異的増殖阻害を示した。これらのような 3-あるいは 20-アシル誘導体に注目し、さらに甘遂のエキスを精査した。その結果、新たに 20-*O*-acetylingenol (**4**)を単離した。また、甘遂は中国原産の植物で入手が困難であることから、我が国で入手しやすく栽培可能な同属植物のホルトソウ (*E. lathyris* L.) の地上部の成分検索を行ない、**1**, **2** の他、3-*O*-2'*E*,4'*Z*,6'*E*-decatrienoylingenol (**5**) および数種のトリテルペンを単離同定するとともに、新たに 17-*O*-2'*E*,4'*Z*-decadienoyl-20-*O*-acetylingenol (**6**)を単離した。



- 1** :R<sub>1</sub> = 2*E*,4*Z*-decadienoyl, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H  
**2** :R<sub>1</sub> = 2*E*,4*E*-decadienoyl, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H  
**3** :R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = H, R<sub>2</sub> = 2*E*,4*Z*-decadienoyl  
**4** :R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = H, R<sub>2</sub> = Ac  
**5** :R<sub>1</sub> = 2*E*,4*Z*,6'*E*-decatrienoyl, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H  
**6** :R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Ac, R<sub>3</sub> = 0-2*E*,4*Z*-decadienoyl

## カテコール-O-メチル転移酵素活性化物質の活性化機序

○ 飯島洋<sup>1</sup>, 西田千代乃<sup>2</sup>, 川島 洋<sup>2</sup>, 宮川雅樹<sup>2</sup>, 布施拓也<sup>2</sup>, 増田喬行<sup>2</sup>, 蘓武高行<sup>2</sup>  
高宮知子<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

ノルアドレナリン(NE)、アドレナリンやドーパミン(DA)などカテコールアミン(CA)類は自律神経系・中枢神経系の伝達物質、あるいは、ホルモンとして生体調節に重要な役割を果たしている。COMTは主として末梢におけるCA(とりわけNE)のレベルを調整する。COMTは腎臓、肝臓、赤血球などに豊富に存在しており、末梢でのCA代謝の主体であると考えられている。

COMTは、S-アデノシルメチオニン(SAM)をメチル供与基質としてNEをノルメタネフリン(NMN)に代謝する。一方、SAMはS-アデノシルホモシステイン(SAH)となるが、SAHはCOMTに対し親和性が高く、生成物阻害(product inhibition)をかける。生理状態においてもCOMTは血中のSAH、あるいは、SAHと等価の関係にあるホモシステインによる強い制御を受けていることを示唆する。

我々は化合物スクリーニングを行った結果、SAHによるCOMTの反応速度低下を抑制する化合物を見いだした(特許出願: 飯島洋, 高宮知子, 特願 2011-061230)。例えば、濃度 30 μM の SAH の存在により、COMT 活性は 50% に減少したが、この化合物の存在下(100 μM)では 75% を維持した。すなわち阻害された酵素にとって 1.5 倍に賦活化されたことになる。

化合物による活性化(SAHによる阻害の解除)の分子機序を解明するため、現在、固定化COMTを利用して、SAHやSAMとCOMTの親和性に、化合物がどのように影響しているかを検討している。

# 石斛の基原植物（ラン科 *Dendrobium* 属）の遺伝子分類と HPLC プロファイルの相関に関する研究

○高宮知子<sup>1</sup>, 塩田奈央<sup>2</sup>, 北村早希<sup>2</sup>, 鈴木俊一郎<sup>2</sup>, 松尾義文<sup>2</sup>, 村瀬健斗<sup>2</sup>, 北中 進<sup>1</sup>  
飯島 洋<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

*Dendrobium* 属は約 1200 種が知られているラン科最大の属である。「石斛」は薬用とされる *Dendrobium* 属植物の偽茎(バルブ)を乾燥させたもので、陰虚・腎虚を改善する滋陰薬として使用されてきた。近年の報告では、*Dendrobium* 属植物はレスベラトロールなどのスチルベンやフェナントレン等のフェノール性成分を多く含むことが明らかとなり、抗酸化活性やアンチエイジング活性が期待される。本属の薬用種は文献上約 30 種ほどあるが、*Dendrobium* 属が多様であるが故、薬用としての記載がない種も「石斛」として流通していることが認められており、生薬の品質を維持する上で問題視されている。

本研究は遺伝子分類と HPLC プロファイルパターンによる化学分類を組み合わせた基原植物識別法の確立を目的としている。すでに我々は *Dendrobium* 属植物 196 種について ribosomal DNA の ITS 領域のシーケンスデータベースを構築済みである。今回 26 種 28 個体の *Dendrobium* 属植物 について HPLC プロファイル作成し、その遺伝子分類と化学成分の相関について検討した。

## ヤマブシタケ由来 RNase の抗腫瘍細胞作用を持つ 改変体作成への試み

○井口法男, 小林弘子, 板垣 正, 元吉尚美  
(日大薬)

**【目的】** ヒラタケの産生する T 1 タイプリボヌクレアーゼ (RNasePo1) は、数種のヒト由来腫瘍細胞に対して生育阻害作用を有することはすでに本プロジェクトの報告会で報告した。同じ担子菌であるヤマブシタケの産生する T 1 タイプリボヌクレアーゼ RNase He1 は RNasePo1 と 60% もの高いホモロジーを有するにも関わらず、ヒト由来腫瘍細胞に対して生育阻害作用を示さない。これは RNase He1 の等電点が Po1 と異なり酸性側にあり、また、至適 pH も Po1 と異なり弱酸性にあることから、腫瘍細胞への取り込みが Po1 より悪いのか、取り込まれても至適 pH が弱酸性にあるため活性が発現できない可能性が考えられる。そこで RNase He1 の有する 11 残基の酸性アミノ酸残基を塩基性アミノ酸残基に改変した rRNase He1 を作成し、酵素化学的諸性質について検討した。

**【結果・考察】** 3 種のプライマーをデザインし、PCR 法により He1 の部位特異改変体遺伝子を得た。pET-pe1B ベクターを用いて大腸菌に導入し、大腸菌培養液に IPTG を加えて 20°C で 7 日間培養した。培養上清を硫酸分画後、各種クロマトを組み合わせて精製し、SDS-PAGE で均一な標品を得た。

改変体 He1 (rRNase He1) の塩基特異性は、グアニン塩基特異的で RNase He1 と同様であった。rRNase He1 の等電点は 7.8 と弱塩基性であるが、面白いことに至適 pH も 7.5 と塩基性側にシフトしていた。人為的に至適 pH を酸性側から塩基性側に改変できることが示されたので、今後この rRNase He1 の抗腫瘍細胞作用について検討するとともに、より抗腫瘍細胞作用の強い改変体の作成を試みる。

## ヒラタケの産生する RNase Po1 の HL-60 細胞への アポトーシス誘導作用

○小林弘子, 元吉尚美, 板垣 正, 井口法男  
(日大薬)

**【目的】** ヒラタケの産生する T1 タイプリボヌクレアーゼ (RNase Po1) は、数種のヒト由来腫瘍細胞に対し、生育阻害作用を有することは前回の学術フロンティア推進事業で明らかにした。同じリボヌクレアーゼであるが A タイプに分類されるヒョウガエル卵由来オンコナーゼ、ウシガエル卵由来シアル酸結合レクチン (SBL) はヒト由来腫瘍細胞に対し、生育阻害作用を有し、その際アポトーシスを誘導することが報告されている。そこで、RNase Po1 をヒト白血病細胞 HL-60 細胞に作用させアポトーシスを誘導するか否かを検討したので報告する。

**【結果・考察】** 0.3  $\mu$  M の RNase Po1 を  $3 \times 10^5$  の HL-60 細胞に 72 時間作用させると、生存細胞数がおおよそ 20% に減少した。この細胞についてヘキスト染色を行ったところ、クロマチンの凝集、断片化が確認できた。また、0.5  $\mu$  M の RNase Po1 を  $3 \times 10^5$  の HL-60 細胞に 72 時間作用させ、*in situ* end labeling 法 (TUNEL 法) を行ったところ DNA 切断端を検出した。次に、 $3 \times 10^5$  の HL-60 に 0.1  $\mu$  M、0.3  $\mu$  M の RNase Po1 加えて 72 時間培養後、Annexin V-FITC、および PI で染色し、フローサイトメトリー解析をおこなった。その結果、RNase Po1 の濃度に依存して Annexin V-FITC により染色された細胞が増加し、アポトーシスがおこっていると思われる。

したがって、RNase Po1 においても、HL-60 細胞に対しアポトーシスを誘発していると考えられ、今後、そのメカニズムについて検討していきたい。

## *Mucoromycotina* の T2 タイプ RNase をコードする 遺伝子のクローニング

○板垣 正, 元吉尚美, 小林弘子, 井口法男  
(日大薬)

T2 タイプと呼ばれる RNase は、幅広い生物種において存在が確認されているが、その機能については不明な点が多い。一方で、真菌由来の本酵素では RNase 活性以外の生理活性が報告されるなど、詳細な機能の解明が待たれている。

本研究では、糸状菌の中で原始的とされる *Mucoromycotina* (ケカビ亜門) の菌株を材料として本酵素をコードする遺伝子のクローニングを行ない、菌類における T2 タイプ RNase の系統進化を解明するための糸口を得ることを目的としている。

現在までに、*Mucoromycotina* に属する二種類の *Umbelopsis* sp. 株 (*U. ramanniana* および *U. isabellina*) ならびに三種類の *Mortierella* sp. 株 (*M. elongata*, *M. parvispora* および *M. globoalpina*) を用いて T2 タイプ RNase をコードする遺伝子のクローニングに成功している。得られた遺伝子の解析より、*Mortierella* sp. には担子菌由来の T2 タイプ RNase と類似の一次構造を持つ RNase が存在することが示唆された。現在、*Mucoromycotina* の菌株である FE464 株ならびに *Kekeyu* 株を用いてクローニングに着手している。原始的とされる菌種について幅広い解析を行うことで、T2 タイプ RNase の系統進化の解明において、さらなる成果が期待される。

## ハナビラタケ由来リボヌクレアーゼの探索

○元吉尚美, 板垣 正, 小林弘子, 井口法男  
(日大薬)

リボヌクレアーゼ (RNase) には大きく分けて3つのタイプが存在するが、真菌ではこの中の T1 タイプおよび T2 タイプ酵素の存在が明らかになっている。もう1つのタイプである A タイプ酵素は哺乳類をはじめとする高等脊椎動物が有するものであるが、カエル由来のこのタイプのリボヌクレアーゼ cSBL は腫瘍細胞の生育阻害作用を示すことが知られている。真菌由来の T1 タイプ酵素の中にも細胞毒性を示すものがいくつか知られており、本研究室でも担子菌であるヒラタケ由来の RNase Po1 がヒト腫瘍細胞に対して生育阻害を示すことを明らかにしている。そこで本研究では新規酵素を得るために、ハナビラタケ由来 RNase の探索を行った。

ハナビラタケの子実体抽出液を SDS-PAGE 後、RNA を基質として活性染色を行ったところ、pH7.0 で 10kDa 付近に1本のバンド、pH4.5 では 20~25kDa に数本のバンドが検出されたため、T1 タイプおよび T2 タイプ酵素の存在は確認された。しかし T1 タイプ酵素についてはその存在量は少ないため子実体から標品を得ることは困難だと予想される。従って T1 タイプ酵素をコードする遺伝子のクローニングを試みたが、全長を決定するには及ばなかった。そこで、T1 タイプ酵素を部分精製した後にアミノ酸配列を解析し、それを元に特異プライマーを設計し再度クローニングを試みることにした。T2 タイプ酵素については比較的存在量が多いため子実体から標品を精製することにし、効率の良い抽出方法や精製方法を検討してハナビラタケ由来 T1 タイプ酵素の部分精製および T2 タイプ酵素の精製を行った。

## マツ科落葉上の *Penicillium* 属菌の収集と 種多様性にみられるパターン

○小川吉夫, 廣瀬 大, 村山琮明  
(日大薬)

*Penicillium* 属菌は、多様な二次代謝物を産生することから、現在においても産業利用の点で重要な分類群のひとつである。しかし、いわゆる何処にでもいるカビの代表であることが災いし、種多様性に関する体系的な調査はこれまで殆ど行われてこなかった。本属は世界中で 300 種以上記載され、日本においても 130 種程が報告されているが、それらが何処にどれくらい存在しているか分からないのである。そこで本研究では、日本気候帯を問わず広く分布しているマツ科に着目し、その落葉に生息する本属の株の収集と種多様性にどのようなパターンがみられるかを明らかにすることを目的とした。

マツ科の落葉は、本科が自生する主に 14 地域 (北海道雌阿寒岳、天塩岳、宮城県奥松島、野蒜海岸、長野県駒ヶ岳しらび平、千畳敷、将棋頭、駒ヶ根、千葉県和田町、埼玉県本庄、奈良県神野山、沖縄県宮古島、石垣島) で採取した。各採取地で約 5m 間隔で 10 箇所、各箇所 10 針葉を採取し、実験室に持ち帰った。持ち帰った葉は、界面活性剤による洗浄後、CMA 培地上に静置し培養、孢子形成され次第、分離培養し菌株を確立した。得られた 858 菌株について、形態的特徴と  $\beta$  チューブリン遺伝子の部分塩基配列から種同定を行った。

全採取地の落葉から合計 66 種の本属菌が分離された。このうち 40 種は日本新産種か新種の可能性がある。各採取地で分離された菌類の種構成は気候帯によって異なる傾向がみられた。また、種数は温帯域で高い傾向が確認された。これらの結果は、種多様性に明確なパターンがあることを示している。

# 急性骨髄性白血病患者に発症した侵襲性アスペルギルス上顎洞炎の in situ hybridization 法による診断

○村山琮明<sup>1</sup>, 廣瀬 大<sup>1</sup>, 小川吉夫<sup>1</sup>, 明見能成<sup>2</sup>, 菅田辰海<sup>2</sup>, 片山雄太<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>広島赤十字原爆病院口腔外科部/血液内科部)

**【目的】** 血液疾患患者において、深在性・侵襲性真菌症は予後不良な疾患である。これらの中で、顎顔面領域では侵襲性アスペルギルス上顎洞炎 (Invasive Sinus Aspergillosis: ISA) が比較的多く、早期診断に基づく積極的な治療が不可欠であるが、診断は容易ではない。今回、2002年から2011年までに経験した4例のISAをもとに、典型的な早期症例と進展症例の臨床病態・検査データ・治療法・予後に関して比較検討して、*in situ hybridization* (ISH)法による早期診断と効果的な治療への手がかりを考察した。

**【結果および考察】** 摘出した壊死性組織のグロコットまたはHEによる組織染色に基づく病理診断に加えて、アスペルギルス属特異的プローブを用いたISH法を行なうと迅速な確定診断が可能であった。可能であれば摘出した壊死性組織を真菌培養して、アスペルギルスを含めた起炎菌種の同定を行い、抗真菌剤感受性を調べることにより治療成績が上がる。ISAの病理・培養診断に加えたISH法の導入は本症例の早期診断に繋がる。初期病変においてISAが真菌の属レベルで早期に診断できれば、適当な治療によりISAの予後は良好であった。

**【論文】** Myoken Y, Sugata T, Katayama Y, Murayama SY. *Mycoses*. 2011 in press.

## ツツジ科植物の根内に生息する菌類の収集と 種多様性にみられるパターン

○廣瀬 大, 小川吉夫, 村山琮明

(日大薬)

植物の生きた根や茎葉の内部に生息する真菌類 (内生菌) は、宿主の生理反応と連動して多様な二次代謝産物を産生する。それらの代謝産物は宿主を食植昆虫や病原菌から防御する機能を有していることから、近年、新規生理活性物質探索の有望な潜在資源として注目されている。演者らは、日本全土に分布するツツジ科植物に着目し、それらの根に生息する内生菌の収集を行った。同時に、それらの内生菌の種多様性にみられるパターンを明らかにした。

植物根は、ツツジ属、イソツツジ属、アセビ属が自生する12地域 (北海道恵山、天塩岳、硫黄山、雌阿寒岳、青森県恐山、山梨県金峰山、埼玉県本庄、長野県西駒ヶ岳、奈良県神野山、鹿児島県屋久島、奄美大島、沖縄県やんばる) で採取した。各採取地で5個体の細根を約10cm採取し、実験室に持ち帰った。持ち帰った根は、界面活性剤による洗浄、塩化水銀による表面殺菌を行った。CMA培地入りのマイクロプレート上に細分化した根を静置し培養、根から培地上に成長してきた菌糸を新たな培地上に移植することで菌株を確立した。得られた約1300菌株について、形態的特徴とrDNAの塩基配列 (ITS領域とD1-D2領域) から種同定を行った。

全採取地の根内から合計81種の菌が分離された。このうち36種はビョウタケ目 (Helotiales) に属する菌であった。各採取地で分離された菌類の種構成は気候帯によって異なった。また、種数は北方地域よりも南方地域の方が高い傾向が確認された。この様に、種多様性には明確なパターンがみられた。

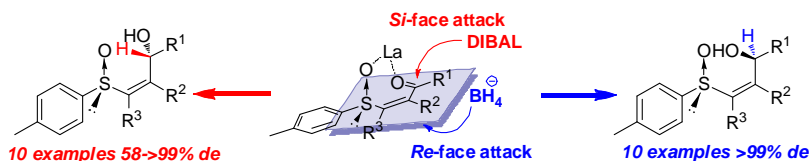


# キラルスルホキシドとランタンイオンを用いたスルフィニルエノンの立体選択的1,2-還元

○本橋重康, 鳥山正晴, 三浦基文  
(日大薬)

**【目的】** 当研究室では、通常のDIBAL還元では進行しない $\alpha$ -スルフィニルエノンをNaBH<sub>4</sub>/YbCl<sub>3</sub>で処理することにより立体選択的還元反応が進行することを見出した。<sup>1)</sup> 本不斉1,2-還元を $\beta$ -スルフィニルエノンに適用し、NaBH<sub>4</sub>/LnCl<sub>3</sub>系(Ln: lanthanoid), および他の還元剤と添加剤に2~4族元素の塩化物とを組み合わせた系で立体選択的に1,2-還元が進行するかを検討した。

**【実験・結果】**  $\beta$ -スルフィニルエノンをNaBH<sub>4</sub>及びLnCl<sub>3</sub>の一つであるLaCl<sub>3</sub>を用いて還元反応を行ったところRe面から反応が進行し、対応する1,2-還元体(図: 右化合物)を高い光学純度かつ高収率で得た。また、この反応でR<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>およびR<sup>3</sup>種々のアルキル基またはフェニル基に変更してもその立体選択性は保持された。一方、還元剤をDIBALに変更したところ、Si面から反応が進行し、その立体選択性は反転した(図: 左化合物)。<sup>2)</sup>



1) *Tetrahedron : Asymmetry*, **2007**, 18, 1269.

2) *The Journal of Organic Chemistry*, **2011**, 76, 3922.

# 機能性を有する金属錯体における配位子の設計と合成

○鳥山正晴, 三浦基文, 本橋重康  
(日大薬)

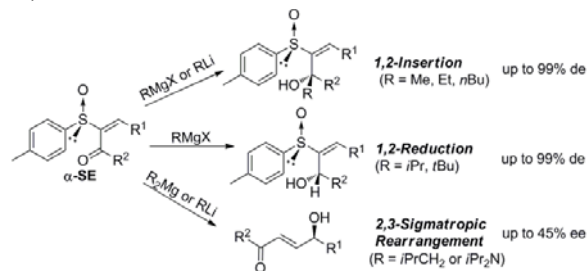
**【目的】** ニトリルの構造異性体であるイソニトリルは、炭素原子上に非共有電子対を有する単離可能な数少ない化合物の一つで多くの遷移金属と錯体を形成するが、比較的不安定な化合物でもある。しかし、近年これらの化合物は、創薬、有機合成化学、機能性材料などの各分野においても重要な位置を占めている。今回我々は、安定な非ベンゼン系芳香族イソニトリル化合物の一つとして isocyanoazulene を見出し、その二量体である biazulene 誘導体をデザインした。これらの化合物の合成法や物性に関する報告例は未だ無く、その物理学的・化学的性質は大変興味深いものがある為、その合成法の確立と対応するイソニトリル化合物への変換及び機能性を有する有機金属錯体への応用について検討を行った。

**【実験・結果】** 直線構造の biazulene には、その結合部位の違いにより3つの構造異性体(2,2'-, 2,6'-, 6,6'-biazulene)が存在する。当該化合物は、tropolone を対応するスルホン酸エステルに変換した後、塩基存在下に ethyl cyanoacetate を反応させ 2-aminoazulene 誘導体を得た。2位のアミノ基及びその6位を Sandmeyer 反応及び臭素化反応により、ヨウ素又は臭素原子に変換した後、対応するボロン酸エステルに誘導した。これと先に合成した 2-aminoazulene の6位を臭素化した化合物をパラジウム触媒存在下、クロスカップリング反応により対応する biazulene 誘導体を得た。残存するアミノ基をホルミル化した後、脱水して目的とする biazulene 誘導体の対応するイソニトリル化合物を合成した。現在、本化合物の物性確認及び有機金属錯体への応用について検討を行っている。

# 光学活性 $\alpha$ -スルフィニルエノンと有機金属試薬による 様々な不斉誘起反応

○三浦基文, 鳥山正晴, 本橋重康  
(日大薬)

当研究室では以前より、光学活性な $\alpha$ -スルフィニルエノン( $\alpha$ -SE)を用いた不斉反応の開発を行ってきた。例えば、 $\alpha$ -SE とランタノイド金属塩を  $\text{NaBH}_4$  で処理することで起こる 1,2-不斉 Luche 還元<sup>1)</sup>や、 $\alpha$ -SE と DBU に  $\text{PPh}_3$  を加えて起こる不斉 2,3-シグマトロピー転位を報告した<sup>2)</sup>。今回、この $\alpha$ -SE を種々の有機リチウム試薬及び有機マグネシウム試薬で処理することで、様々な不斉誘起反応が起こることが確認されたので報告する。立体障害の小さい有機マグネシウム試薬 ( $\text{MeMgBr}$ ,  $\text{EtMgBr}$  など) を用いると 1,2-付加反応が選択的に起こり、対応する 3 級のスルフィニルアリルアルコールを与え、一方、立体障害の大きな有機マグネシウム試薬 ( $i\text{PrMgBr}$ ,  $t\text{BuMgBr}$  など) を用いると 1,2 還元が優先的に起こり、LDA やジアルキルマグネシウム試薬を用いると 2,3-シグマトロピー転位反応が起こることを見出した。特に 1,2-還元及び 2,3-シグマトロピー転位反応は既に報告している反応<sup>1,2)</sup>と逆の選択性を持つことから、本反応は相補的な不斉反応として用いることができる可能性がある。現在、収率及び、不斉収率の向上の検討を行っている。



[References] 1) *Tetrahedron : Asymm.*, **2007**, *18*, 1269, 2) *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 3882

# 汎用型及び非同期型高速向流クロマトグラフ装置による タンパク質の分離

○四宮一総<sup>1</sup>, 柳平和寛<sup>2</sup>, 丸山 博<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大理)

**【目的】** 高速向流クロマトグラフ装置 (HSCCC) の中で、J 型 HSCCC と交軸型 HSCCC は分離効率が高く、比較的短時間に分離を達成することができる。J 型 HSCCC は回転機構が簡素で、有機溶媒-水系二相溶媒を用いた分離に有効であるが、交軸型 HSCCC とは異なり、水性二相溶媒の使用は難しいとされてきた。そこで、J 型 HSCCC と同じ方向 (順方向) に自転するカラムと逆方向に自転するカラムを隣接させた汎用型 HSCCC を製作し、水性二相溶媒によるタンパク質の分離を検討した。また、送液チューブ配管機構に回転シール装置を組み込んでカラムの自転速度と公転速度が異なる非同期型 HSCCC に改良し、同様に検討した。

**【実験】** 汎用型及び非同期型 HSCCC は本学理工学部工作技術センターで製作した。カラムは eccentric coil (容量 29.5 mL) 又は toroidal coil (容量 29.8 mL)、水性二相溶媒は 12.5%(w/w)ポリエチレングリコール 1000-12.5%(w/w)K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>水溶液、タンパク質試料は cytochrome C (cyt C; 2 mg)、myoglobin (myo; 8 mg)、lysozyme (lys; 10 mg)を用いた。

**【結果・考察】** 汎用型及び非同期型 HSCCC の両方とも公転方向と逆方向に自転するカラムでは固定相溶媒は保持されなかった。しかし、順方向に自転するカラムではタンパク質分離が達成され、eccentric coilの方が toroidal coilより高い分離効率が得られた。また、非同期型 HSCCC に改良した結果、従来の同期型の J 型 HSCCC と比較して分離効率が改善された。

## 化合物ライブラリーの拡充： イサチンおよびインディルビン誘導体の合成

○宮入伸一<sup>1</sup>，秋本麻実香<sup>2</sup>，岩田周也<sup>2</sup>，大路絢子<sup>2</sup>，金子未奈<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬，<sup>2</sup>日大薬学生)

我々は、これまでに本薬学研究所のプロジェクト研究であった化合物ライブラリーの構築に協力し、様々なインドール誘導体を合成して有用な生物活性を有する化合物の探索に供してきた。平成 23 年度薬学研究所プロジェクトにおいても、この趣旨を引き継ぎ、インドール系化合物ライブラリーの拡充を企て、これまで収率や反応条件の面で合成が困難であったイサチンおよびインディルビン誘導体や 1'-O-あるいは 1'-C-アナログの合成に着手した。また、これまでの検討で、インドール環の置換基として孤立電子対をもつメトキシ基が生物活性発現に有効な官能基であったことから、インドールの芳香環内に孤立電子対が存在するアザイサチンやアザインディルビンの合成法の開発も試みた。

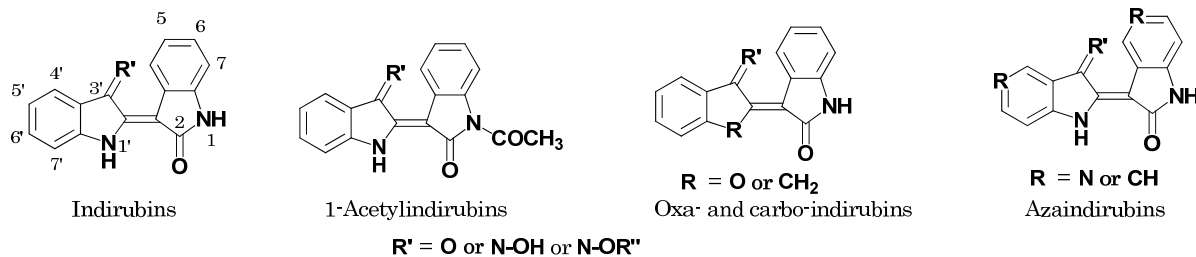


Fig. Structures of indirubin derivatives and analogs

## biguanide を基本構造とした脳神経保護薬の合成

○三宅宗晴  
(日大薬)

脳虚血時にみられるアシドーシスやグルタミン酸毒性による症状の悪化には、acid-sensing ion channel (ASIC1a) や *N*-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) などのカルシウム透過性イオンチャンネルが深く関与している。ASIC1a の活性化は細胞膜の脱分極を誘発することで NMDAR を活性化させ、NMDAR は  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) の活性化を介して間接的に ASIC1a の活性を亢進する。NMDAR および ASIC1a の相互の活性化が神経細胞死を誘発することから、本研究では、biguanide 骨格を基軸とした ASIC1a および NMDAR 活性の両方を阻害する化合物の合成をおこない、脳神経細胞を保護する化合物の創製を目的とする。

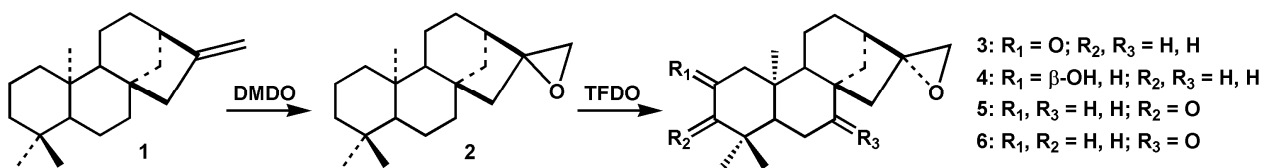
# スギの葉由来 *ent*-kaurene への酸素官能基導入に関する研究

○内山武人<sup>1</sup>, 矢野 優<sup>2</sup>, 田畑恵市<sup>1</sup>, 小村健太郎<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生, <sup>3</sup>日大薬職員)

**【目的】** *ent*-Kaurene(**1**)は炭素と水素のみから構成されるジテルペンであり、日本特産であるスギ (*Cryptomeria japonica*)の葉に豊富に含まれ容易に単離することができる。また、酸素官能基をもつ kaurene 誘導体には抗腫瘍活性、抗菌活性などの生物活性があることも知られている。一方、ジオキシランは中性条件でアルケンをエポキシ化できる温和な酸化剤であるとともに、蝶形オキセノイド機構を經由して C-H 結合を酸化できるユニークな酸化剤であることが報告されている。そこで、スギの葉より容易に得られる *ent*-kaurene への酸素官能基の導入を目的に、ジオキシランによる酸化反応を検討した。

**【実験・結果】** 本学薬用植物園のスギの葉より単離した *ent*-kaurene(**1**)を dimethyldioxirane(DMDO)で処理するとエポキシ体(**2**)が定量的に得られた。次に、より強い酸化剤である methyl(trifluoromethyl)dioxirane (TFDO) を **2** に作用させたところ、新規化合物 **3, 4, 6** を含む酸化成績体(**3-6**)が収率 3~10% で得られた。また、得られた化合物の神経芽腫細胞に対する細胞傷害活性についても検討を行った。

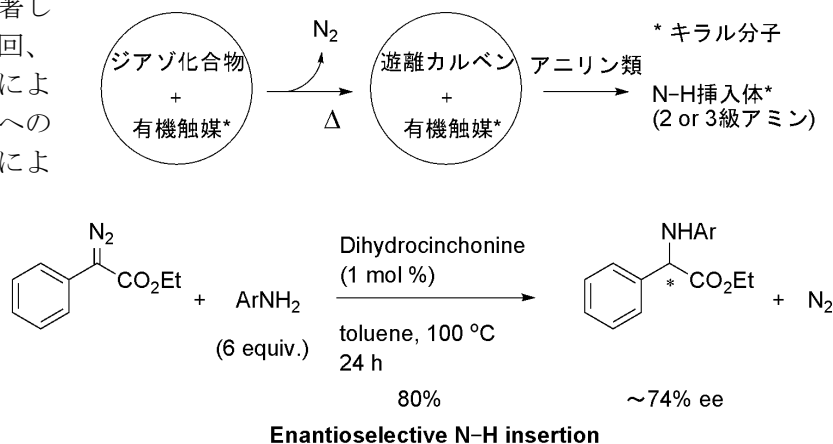


# 熱ジアゾ分解を引き金とする立体選択的カルベン挿入反応

○齋藤弘明<sup>1</sup>, 森田大輔<sup>2</sup>, 小島涼佑<sup>2</sup>, 橋 亮至<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>日大薬学生)

我々は、これまでに金属錯体および有機触媒を併用するカルベンの X-H 間への不斉挿入反応を検討してきた。金属錯体は室温程度の比較的低温でジアゾ分解を惹起し、カルベンを生成する特徴をもつことから不斉挿入反応で繁用されている。しかし、基質に含まれる窒素原子、硫黄原子などの Lewis 塩基が金属原子に配位すると触媒活性が著しく損なわれる欠点をもつ。そこで今回、金属錯体に依らずに、熱あるいは光により生成したカルベンの不斉挿入反応への適用を検討した。その結果、熱分解により生成したカルベンについても、先に我々が見出した有機触媒が不斉挿入反応を誘起することが明らかになり、ジヒドロシニコニンを用いるアニリンの N-H 挿入反応において 74%の不斉収率を示す反応系の構築に成功した。



# 大学女子バレーボール選手のパフォーマンス向上のための 栄養サポートの検討

○松尾 絵梨子<sup>1</sup>, 松原 茂<sup>1</sup>, 小池 勝也<sup>1</sup>, 風見公子<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>人間総合科学大)

**【目的】** 大学生女子バレーボール選手のパフォーマンス向上を目指す、栄養サポートの有効的な手段の検討を目的とする。

**【方法】** 栄養サポートを通じて選手の生活習慣及び食生活の行動変容を促し、より良いコンディショニングに導けるよう、管理栄養士と連携し、栄養サポートを実施した。調査時期および調査項目：①2011年1月、N大学女子バレーボール部12名を対象に、生活習慣、及び栄養調査、血液検査、身体計測、POMSによる主観的疲労度の調査、②2011年12月、14名を対象に、試合期における選手のコンディショニングの確認、③2012年1月初旬、14名を対象にオフ期のコンディショニングの確認、②③の調査項目は①の項目+唾液アミラーゼによるストレス調査。栄養教育：管理栄養士を講師として2011年1月より個人指導1回、集団指導3回、メールでは随時実施した。

**【結果および考察】** 2011年1月の栄養調査の結果では、国立スポーツ科学センター(JISS)による、「アスリートを対象とした1日エネルギー必要量」を満たしている選手は3名(25%)であった。炭水化物、たんぱく質、カルシウム、食物繊維においても摂取量の不足が認められた。血液検査においては貧血傾向が2名(16.7%)みられた。2011年1月と12月の値を比較検討した結果、身体組成値は体脂肪率が有意に減少し、体重、体脂肪量の値においても、減少傾向を示した。血液検査では、RBC、Hb、Hct、MCV、TP、Alb、血清鉄の値は有意な増加が認められた。栄養学的所見から、栄養教育介入による貧血傾向の改善が期待できる結果となり、さらに、体重、体脂肪率、体脂肪量の減少の結果を踏まえ、栄養教育の介入による選手達の食事意識の変化がうかがえた。他の調査項目についてもさらなる検討を加えることとした。

## 「大学女子バレーボール選手のコンディショニングの検討」

○松原 茂, 松尾 絵梨子, 小池 勝也  
(日大薬)

**【目的】** スポーツのパフォーマンス向上は主に技術的なトレーニングを積むことが必須である。しかし、練習の成果を試合において存分に発揮するためには栄養、休養、メンタル等を含めたコンディショニングづくりが重要となる。そこで、本研究では大学生女子バレーボール選手を対象としてコンディショニングを検討することを目的とする。

**【方法】** 対象者：N大学女子バレーボール部員12名（1年生：2名、2年生：8名、3年生：2名、平均年齢19.3±0.7歳）。調査時期および調査項目：2011年1月、身体計測、血液検査、栄養調査、POMS(Profile of Mood States)による主観的疲労度の調査を実施した。

**【結果および考察】** 身体計測の結果、身長164.8±5.5cm、体重62.7±12.1kgであった。血液検査の結果、貧血傾向（血清鉄の低値）が12名中2名みられた。また、血清CK値は高値であり、正常範囲を逸脱していた。栄養調査の結果、国立スポーツ科学センター(JISS)による、「アスリートを対象とした1日エネルギー必要量」を満たしている選手は12名中3名のみであり、さらに、各栄養素については炭水化物、たんぱく質、カルシウム、食物繊維において摂取量の不足が多く選手に認められた。POMSでは項目の中で疲労得点が高い値を示した。以上のことからN大学女子バレーボール選手の栄養摂取状況はスポーツ選手にとって重要な栄養素の摂取量が不足していたことから、食意識や貧血傾向を改善する必要性が示唆された。今後の対策としては、試合期、オフ期等練習スケジュールにおいて活動量に見合った適切な栄養教育を実施し、コンディショニングづくりやパフォーマンスの向上を目指したい。

# 心・腎重量および尿蛋白排泄量に及ぼす運動とアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬併用の影響

○小池勝也<sup>1</sup>, 松原茂<sup>1</sup>, 松尾絵梨子<sup>1</sup>, 林宏行<sup>1</sup>, 青山慎一郎<sup>2</sup>, 鈴木政登<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>日大薬, <sup>2</sup>国士舘大, <sup>3</sup>東京慈恵会医科大)

**【目的】** 本研究では、ヒト微量アルブミン尿期に相当する週齢の肥満・糖尿病モデル OLETF(Otsuka Long Evans Tokushima Fatty)ラットを用い、運動単独、ARB の 1 種であるオルメサルタン(第一三共、Olm)投与、運動と Olm 投与併用による糖代謝能や心・腎重量及び尿蛋白排泄量に及ぼす影響を観察し、運動療法単独でも腎症の進展が抑制されるか、Olm 投与による腎を中心とした臓器保護効果がみられるか否かを明らかにしたい。

**【結果と考察】** 運動単独、運動と Olm 併用療法によって体重が 15~20%減少した。Olm 投与単独でも 6.5%の有意な減少を示した。収縮期および拡張期血圧は運動単独では変化しなかったが、Olm 及び Olm と運動の併用によって有意に低下した。空腹時血糖値(FBS)は運動及び Olm と運動の併用によって有意に低下したが、Olm 単独では低下しなかった。血清インスリンは介入前後で有意な変化を示さなかった。介入後の HbA1C は運動及び Olm と運動の併用群が低値傾向を示したが、血清アディポネクチン値は OLETF 及び LETO ラット 5 群間に差異はなかった。Olm 及び運動と Olm 併用群の尿中 TP 及び Alb 排泄量は OLETF-Sed 及び OLETF-Ex 群に比較し有意な低値であった。また、Olm 及び運動と Olm 併用群の心・腎重量が OLETF-Sed 及び OLETF-Ex 群に比較し有意に低く、糸球体面積、容積及びメサンギウム領域面積も少なかった。降圧薬 Olm によって心・腎への圧負荷が減少した結果、臓器肥大が抑制されたものと思われる。

**【結論】** 運動単独では肥満・糖尿病モデルラットの糖尿病性腎症の進展を阻止できなかった。降圧薬 Olm または運動と Olm の併用によって心・腎肥大抑制及び尿中蛋白排泄量が僅少となった。したがって、糖尿病に腎症を合併している場合には降圧薬による血圧管理下での運動療法が望ましいことが示唆された。