



第8回 The 8th Annual Meeting of
Japanese Society for Pharmaceutical
Palliative Care and Sciences

日本緩和医療薬学会年会

輪
繋

(つながり)

～いま、緩和医療にできること～

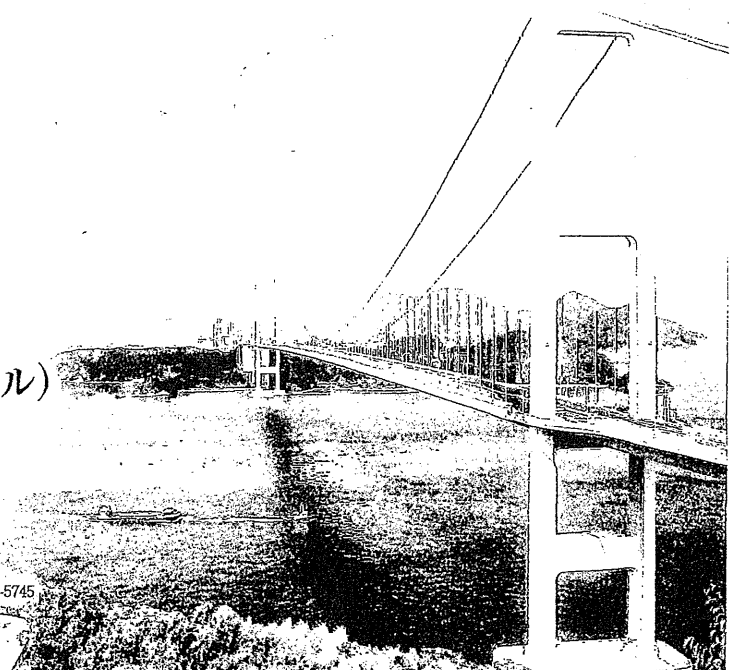
[会期] 平成26年 10月3日(金)～5日(日)
(2014年)

[会長] 荒木 博陽
(愛媛大学医学部附属病院薬剤部 教授・薬剤部長)

[会場] 愛媛県県民文化会館(ひめぎんホール)
愛媛看護研修センター
愛媛県身体障害者福祉センター



学会事務局：愛媛大学医学部附属病院薬剤部内
〒791-0295 愛媛県東温市志津川 TEL：089-960-5731 FAX：089-960-5745
運営事務局：株式会社日本旅行 中四国コンベンショングループ
〒700-0023 岡山県岡山市北区駅前町2-1-7 JR西日本岡山支社ビル1階
TEL：086-225-9281 FAX：086-225-9305



がん患者の QOL を維持・向上させる代替医療、補完療法としての漢方薬 —基礎・臨床研究を通して明らかになってきたエビデンス—

国立がん研究センター 研究所 がん患者病態生理研究分野
上園 保仁

平成 19 年施行の「がん対策基本法」、ならびに「がん対策推進基本計画（平成 19～23 年）」の目標の一つに「がん患者の早期からの苦痛の軽減ならびに症状緩和」がある。平成 24 年には「第二期がん対策推進基本計画（平成 24～28 年）」が開始され、「がんと診断されたときからの緩和ケアの推進」、「がんになっても安心して暮らせる社会の構築」を新たに目標に加え、その実現に邁進しているところである。

がん患者の苦痛はがん自身により引き起こされる肉体的・精神的、社会的な痛みから、抗がん剤、放射線治療の副作用によるものなど多岐にわたる。患者の Quality of Life (QOL) の維持・向上には総合的な対応が望まれるが、既存の処方やケア体制では十分な対応ができていない。近年、様々な効能を有する複合薬剤であり、さまざまな治療の補完療法としての「漢方薬」が、がん患者の症状緩和に奏効するというエビデンスが蓄積してきた。

私たちは、国立がん研究センター研究所において、がん患者の QOL 維持向上をめざすための基礎から臨床への橋渡し研究を行っている。その中で中国より伝わり江戸時代に日本の環境と日本人の体質に合わせて発展を遂げた「漢方薬」をがん患者の持つ身体症状を全体的にとらえる薬物として注目した。現在、終末期がん患者の食思不振、体重減少などの症状、抗がん剤による吐き気やしびれ、痛みなどの諸症状への漢方薬の効果について「なぜ効くのか？」を明らかにするための基礎研究、「本当に効くのか？」を証明するための臨床研究を行っている。

本講演では、科学的エビデンスが得られてきたいくつかの漢方製剤として「六君子湯」の終末期がん悪液質患者の食思改善、抗がん剤による食思不振、嘔気嘔吐に対する改善作用への臨床応用の可能性について、明らかになってきた作用機序をもとに紹介する。

また、漢方薬の「大建中湯」は、米国食品医薬品局 (FDA) に消化管機能改善薬としての治験薬として許可され、現在シカゴ大学などの一流機関でプラセボを用いた第二相試験が行われている。日本で誕生した「漢方薬」が客観的試験を経て米国で認可され、代替医療薬を越える本格的治療薬として世界に登場する日を願い、漢方薬の現状と展望についてもその一端を紹介出来れば幸いである。

精油ならびに精油成分の疼痛緩和作用の解析

ARTE AROMATICA¹⁾、第一薬科大学 育薬研究センター²⁾、
熊本保健科学大学 保健科学部³⁾
桑波田日香里¹⁾、櫻田 司²⁾、高濱 和夫³⁾

近年、がん患者に対して緩和ケアの補完療法の一つとして、アロマセラピーマッサージが積極的に実践されている。しかし、薬理学的検証に基づく科学的なエビデンスが十分蓄積しているとは言い難い。そこで、本研究においては、アロマセラピーマッサージに用いられる精油とその成分の疼痛抑制作用を動物の疼痛モデルを用いて薬理学的に検討した。その結果、以下の成績および結論を得た。

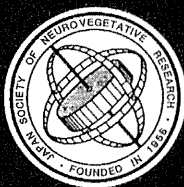
ベルガモット精油およびその成分の一つである酢酸リナリルは 10 μ g, i.p. を、さらにリナロールは 2.5 μ g, i.p. を、それぞれマウス後肢右足蹠皮下に投与し、10 分後に同じ部位にカプサイシン (1.6 μ g/20 μ L) を投与すると、カプサイシンによる侵害刺激反応は有意に抑制された。この抗侵害刺激作用は、ベルガモット精油およびリナロールをカプサイシン投与部位の反対側に前投与した場合には見られなかったことにより、精油を投与した局所にとどまることが示唆された。

単独では鎮痛作用を示さない用量のベルガモット精油 5 μ g, i.p. およびリナロール 1.25 μ g, i.p. を、同じく単独では鎮痛作用を示さないモルヒネ 1mg/kg, i.p. と併用すると、カプサイシン誘発性侵害刺激に対する反応は有意に抑制された。これらの抗侵害刺激作用は、ナロキソンの前投与により抑制され、作用の発現にオピオイド受容体が少なくとも一部関与することが示唆された。

次に、ベルガモット精油およびリナロールが抗神経因性疼痛 (抗アロディニア) 作用を有するか否かについて、マウスの坐骨神経結紮モデルを用いて検討した。その結果、ベルガモット精油 20 μ g/20 μ L, i.p. およびリナロール 5 μ g-10 μ g /20 μ L, i.p. は、坐骨神経結紮誘発性アロディニアを、それぞれ濃度依存的に抑制した。また、このアロディニアに対して効果を示さない用量のモルヒネ 64 μ g/20 μ L, i.p. と、同じく作用を示さないベルガモット精油 5 μ g/20 μ L, i.p. あるいはリナロール 2.5 μ g/20 μ L, i.p. との併用は、有意な抗アロディニア作用を示した。

これらの結果より、アロマセラピーマッサージに用いられる代表的な精油であるベルガモット精油およびその活性成分は、動物モデルにおいて抗疼痛作用を有し、かつ、既存の鎮痛薬に抵抗性を示す神経障害性疼痛モデルに対しても抗疼痛作用をもつことがわかった。さらに、その作用は局所的に発現し、これらの成分はモルヒネの抗侵害刺激作用を増強することも見出された。

THE 67TH ANNUAL MEETING OF THE JAPAN SOCIETY OF NEUROVEGETATIVE RESEARCH



第67回

日本自律神経学会総会

プログラム・抄録集

テーマ「自律神経研究の温故知新」

2014年10月30日(木)・31日(金)

会場 ラフレシア

会長 田村

副会長 山元



S3-5 オピオイドの効きにくいがん性腹膜炎の痛みや適切な治療のない 口内炎痛に対する作用メカニズムに基づく奏効薬の開発

○上園 保仁¹⁾、宮野 加奈子¹⁾、鈴木 雅美¹⁾、人見 涼露²⁾、
小野 堅太郎²⁾、稲永 清敏²⁾

国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野¹⁾、
九州歯科大学 歯学部歯学科 生理学分野²⁾

私たちはオピオイド製剤の効きにくいがん性腹膜炎の痛みの発現機序を明らかにし病態生理に基づいた奏効薬を開発すること、ならびに適切な治療のないがん患者の口内炎の痛みを取る鎮痛薬の開発をめざし研究を行っている。

がん性腹膜炎疼痛モデルは低分化型胃癌細胞をマウスに腹腔内移植することにより作製し、腹膜炎に伴う腹痛は腹膜炎刺激後の逃避行動をスコア化した。さらに同マウスの脊髄後根神経節を取り出し、疼痛に関与する遺伝子の発現変化を RT-PCR 及び免疫染色法を用いて解析した。一方、口内炎評価モデルは、ラットの口腔の一部を酢酸で浸すことにより潰瘍を作り、接触痛を von Frey 法にて評価した。

胃癌細胞移植腹膜炎モデルでは有意な疼痛行動が認められ、この行動はモルヒネで抑制されず低用量のリドカインで痛みが改善した。脊髄後根神経節では Na⁺ チャネル Nav1.7 サブユニットの発現は有意に増加、またオピオイド μ 受容体の発現は有意に減少していた。口内炎モデルラットでは口腔内へのリドカイン滴下で痛みが抑制されるも正常ラットでは麻痺を示し、痛みに加え触覚（食感）が損なわれていることが示唆された。現在開発中の鎮痛薬 Compound X は、リドカインと同様著明な鎮痛を示したが、正常ラットでは麻痺をほとんど示さなかった。

これらの結果は、がん性腹膜炎モデルの μ 受容体の減少がモルヒネ抵抗性を惹起し、Nav1.7 の発現増加がリドカインの奏効性に関与すると考えられること、またがん患者の「食べる、飲む、話す」を著しく阻害する口内炎に対し、味覚、食感に影響を与えない鎮痛薬の開発は、患者 QOL 向上に重要であると考えられた。

◎略 歴

平成元年 3 月 産業医科大学大学院生体機能調節分野薬理学講座 修了
平成 3 年 1 月 米国カリフォルニア工科大学生物学部門 ポスドクとして留学 (2 年 6 ヶ月)
平成 4 年 7 月 産業医科大学薬理学講座 助手
平成 6 年 9 月 産業医科大学薬理学講座 講師
平成 12 年 10 月 長崎大学医学部薬理学講座 講師
平成 16 年 11 月 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内臓薬理学講座 助教授
平成 21 年 1 月 国立がんセンター研究所がん患者病態生理研究部 部長
平成 22 年 4 月 独立行政法人国立がん研究センター研究所がん患者病態生理研究分野 分野長
平成 23 年 7 月 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科麻酔・蘇生科学 客員教授 兼任

第7回
トランスポーター研究会九州部会
JTRAQ2014

～Reevaluation of Membrane Transport Protein～



2014年11月22日(土)

産業医科大学ラマツイーニホール

〈主催〉

トランスポーター研究会

〈後援〉

公益社団法人 日本薬理学会

P-11

Capsaicin 受容体 (TRPV1) 活性に作用する物質の検討

○佐藤 崇弘, 山田 康枝

近畿大学大学院システム工学研究科システム工学専攻生物化学クラスタ栄養化学研究室

y-yamada@hiro.kindai.ac.jp

【目的】 Capsaicin 受容体 (transient receptor potential vanilloid type 1, TRPV1) は皮膚、脳、神経に多く発現し、43°C以上の熱や辛味成分 capsaicin (Cap) などで活性化する Ca^{2+} チャネルで痛みにも深く関与している。近年、受容体の活性化は抗肥満、神経障害性疼痛治療効果、神経細胞保護効果があり、活性抑制は頭痛抑制作用などの様々な効果があるとの報告がある。新たな TRPV1 作用物質を見つけるためにアフリカツメガエル卵母細胞にウシの TRPV1 を発現させ、その活性を測定した。【方法】 卵母細胞に TRPV1 の mRNA を注入し受容体を発現させ、二電極膜電位固定法により膜電位を -70mV に固定し、Cap を受容体に灌流し得られる Ca^{2+} の流入による電流を測定した。偏頭痛薬である sumatriptan や TRPV1 への効果が知られている shogaol とその誘導体の効果を検討した。また、日本酒を 3 種類のイオン交換樹脂を用い、amine 類を含む C 画分、中性・酸性アミノ酸を含む R 画分、有機酸を含む A 画分、糖を含む N 画分を得た。4 画分全ての受容体への効果を検討し、日本酒中に含まれる amine の効果を検討した。【結果・考察】 Cap の EC_{50} は 3.70 μ M であった。sumatriptan は高い阻害効果を示し、shogaol は単独活性を示し EC_{50} は 8.1 μ M であった。また分画した日本酒の A 画分、N 画分は受容体活性を阻害し、C 画分、R 画分は活性化した。spermine、agmatine は単独活性を示し、 EC_{50} はそれぞれ 259 μ M、250 μ M であった。日本酒中のどの成分が効果を与えているのかメタボローム解析を行い同定していく予定である。今後、Cap および、今回検討した物質の神経系細胞への効果を検討する予定である。

P-12

新規がん悪液質モデルラットの作製及び同モデルに対する漢方薬六君子湯の改善効果

寺脇潔¹⁾、柳原五吉²⁾、澤田祐美¹⁾、鈴木雅美¹⁾、宮野加奈子¹⁾、須藤結香¹⁾、白石成二¹⁾、○上園保仁¹⁾

1) 国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、2) 安田女子大学薬学部生命薬学講座

yuezono@ncc.go.jp

【目的】 がん悪液質は進行がん患者の 80% に発現し、食欲不振、体重減少、脂肪・筋肉組織の消耗、全身衰弱をきたす進行性消耗状態である。悪液質改善は、がん患者の QOL 向上のためにも喫緊の課題である。本研究は、がん悪液質の病態解明および症状改善薬の評価のための動物モデルを作製し、さらに食欲不振に適応を有する漢方薬六君子湯の同モデルに対する効果を検討した。

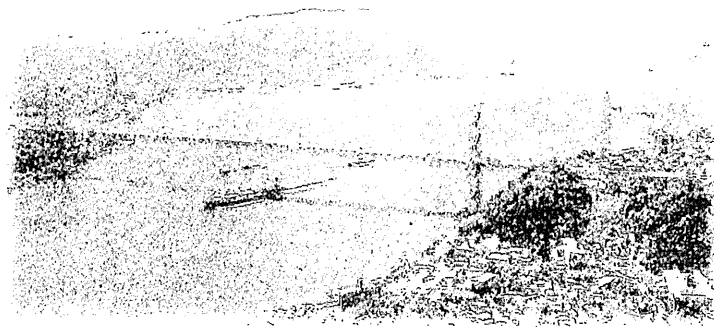
【方法】 低分化型ヒト胃がん細胞株(MKN45)から我々が確立した細胞株 (MKN45clone85、85As2) をヌードラット (8 週齢、雄) の左右腹部に皮下移植 (1×10^7 cells) 後、体重、摂食量、体組成 (脂肪量、除脂肪量、体水分量) を毎週測定した。移植 2、4、12 週後に解剖し、脂肪・筋肉組織重量、血中パラメーターを測定した。さらに、悪液質 (摂食量低下) 発症後から六君子湯を経口投与し、改善効果を検討した。

【結果】 がん細胞移植ラットでは、有意な体重減少、摂食量低下、脂肪・除脂肪・筋肉量の減少、血中炎症性マーカーの上昇 (急性期蛋白・サイトカイン) および血中アルブミン値の低下が認められた。また、六君子湯 (1g/kg) 経口投与により、悪液質発症後のラットの摂食量が有意に改善した。

【考察】 今回作製したモデルラットはがん悪液質の特徴を反映し、がん悪液質の病態生理研究に応用可能と考えられる。六君子湯はがん悪液質モデルに対し改善効果を示したことから、がん患者の QOL 向上への貢献が期待できる。

第7回
トランスポーター研究会九州部会
JTRAQ2014

~Reevaluation of Membrane Transport Protein~



2014年11月22日(土)

産業医科大学ラマツイーニホール

〈主催〉

トランスポーター研究会

〈後援〉

公益社団法人 日本薬理学会

P-9

CellKey™ System を用いたナルフラフィン誘導体の μ , δ , κ オピオイド受容体作動活性評価

○佐藤汐莉^{1,2)}、根本悦子^{1,2)}、川合田恵美^{1,2)}、横山明信^{2,3)}、西村瞳^{2,3)}、宮野加奈子²⁾、平山重人¹⁾、白石成二²⁾、長瀬博⁴⁾、藤井秀明¹⁾、上園保仁²⁾

1)北里大学 薬学部 生命薬化学研究室、2)国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、3)東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、4)筑波大学 IIS 創薬化学研究室

yuezono@ncc.go.jp

【背景・目的】オピオイド受容体は3つのタイプ (μ , κ , δ) が知られており、鎮痛作用には3つの受容体に関与し、依存性は μ 受容体に関与すると考えられている。 κ 作動薬であるナルフラフインは2009年に止痒薬として上市されたが、鎮痛用量において鎮痛作用と鎮静作用の分離が十分にできなかったため、適応を鎮痛薬から止痒薬に変更して開発されたという経緯がある。薬物嫌悪性のない κ 作動性鎮痛薬を設計するためには、 κ 受容体に対して選択的に作動活性を発現させる必須構造を明らかにする必要がある。本研究では、新しい活性評価法として、評価対象細胞に標識化合物などを添加する必要のない、いわゆる label-free でアッセイできる CellKey™ System を用いることにより、作成したナルフラフィン誘導体の κ 受容体への作動活性、選択性の評価を行った。

【方法】 μ , δ , κ オピオイド受容体をそれぞれ安定発現する human embryonic kidney 293 (HEK293)細胞を培養し、CellKey™専用の 96well プレート上で培養した。その後各誘導体を添加し、受容体刺激で変化する細胞電気抵抗の変化をリアルタイムで CellKey™ System を用いて測定した。

【結果】本実験では合成したナルフラフィン誘導体を大きく3つに大別し評価した (①ベンゼン環を有する誘導体群、②ベンゼン環をシクロヘキセン環に置換した誘導体群、③ベンゼン環を除去した誘導体群)。その結果、①群は、 μ , κ , δ 受容体に対する EC_{50} および E_{max} はナルフラフィンの各受容体に対する値とほぼ同程度であり、 EC_{50} は κ 受容体が μ , δ 受容体と比較して最も小さかった。②群でも①と同様の傾向が認められた。③群は δ , κ 受容体に対する作動活性がナルフラフィンと比較して低下する傾向が見られた。

【考察】ナルフラフィンのベンゼン環部位は κ 受容体への作動活性上昇、および選択性の向上に寄与する。この活性上昇・選択性はベンゼン環をシクロヘキセン環へ置換しても認められた。

P-10

オピオイド受容体作動薬の新規スクリーニング法の確立及び同法を用いた δ オピオイド受容体作動薬の探索

○横山明信^{1,2)}、須藤結香¹⁾、宮野加奈子²⁾、白石成二²⁾、平山重人³⁾、林田康平³⁾、藤井秀明³⁾、長瀬博⁴⁾、樋上賀一¹⁾、上園保仁²⁾

1)東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、2) 国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、3) 北里大学 薬学部 生命薬化学研究室、4) 筑波大学 IIS 創薬化学研究室

yuezono@ncc.go.jp

【背景】オピオイド受容体は $G_{i/o}$ タンパク質に共役する G タンパク質共役型受容体(GPCR)に属し、 μ , δ , κ (MOR, DOR, KOR) の3種類のサブタイプが存在する。臨床で用いる医療用麻薬は MOR に対して高い親和性を有しているが、MOR は鎮痛作用に加え、依存性にも関与していることが問題である。そこで近年、依存性の少ない新たな鎮痛薬ターゲットとして DOR 及び KOR に選択性の高い作動薬の創出が期待されている。本研究では、臨床薬として未だ上市されていない DOR に着目し、DOR 作動薬として設計された9種類の化合物について *in vitro* スクリーニングを行った。スクリーニング法として、ラベルフリーで、すべての GPCR 活性の測定が可能である CellKey™ System (以下、CellKey™) を利用した方法の確立を行い、その解析を行った。

【方法】CellKey™の原理は、各ウェルに電極を取り付けた96ウェル専用プレート上で細胞を培養し、アゴニスト処置による電極間の電気抵抗値の変化を受容体活性としてリアルタイムに測定する。本研究では、樹立した MOR, DOR, KOR 安定発現細胞株を用い、CellKey™による薬物活性評価を行った。加えて、医療用麻薬の耐性形成に関与していると考えられている受容体脱感作アッセイ法の確立を行い、同アッセイ法を用いて薬物スクリーニングを行った。

【結果】DOR 安定発現 human embryonic kidney 293 (HEK293)細胞に対して、DOR 選択的アゴニストである SNC-80 は濃度依存的な活性を示し、その活性は DOR 選択的アンタゴニストの Naltrindole により抑制された。次に、CellKey™を連続して2回行い、1回目と2回目の活性を比較することで受容体脱感作を評価した。その結果、急性耐性が問題となっている SNC-80 では脱感作が起こり、脱感作が生じにくいとされる DPDPE は脱感作をほとんど起こさなかった。これらの結果から、CellKey™を用いた受容体脱感作アッセイ法の確立に成功した。さらに確立した CellKey™によるスクリーニング法を用いて、新規 DOR 作動薬として設計された9種の化合物についてスクリーニングを行ったので紹介する。

第7回
トランスポーター研究会九州部会
JTRAQ2014

~Reevaluation of Membrane Transport Protein~



2014年11月22日(土)

産業医科大学ラマツィーニホール

〈主催〉

トランスポーター研究会

〈後援〉

公益社団法人 日本薬理学会

P-7

アディポネクチン受容体1 (AdipoR1) シグナルの迅速かつ簡便なアッセイ法の確立

○西村瞳^{1,2}、宮野加奈子²、山川央³、川合田恵美^{2,4}、横山明信^{1,2}、須藤結香¹、白石成二²、極上賀一¹、長瀬隆弘³、上園保仁²

¹東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、²国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、³かずさ DNA 研究所 遺伝子応用研究室、⁴北里大学 薬学部 生命薬化学研究室
yuezono@ncc.go.jp

[背景・目的]アディポネクチンは脂肪細胞で産生、分泌され、脂肪酸燃焼、糖新生・炎症性サイトカインの産生および活性を抑制する。その血中動態は肥満や生活習慣病と逆相関することから、アディポネクチン受容体作動薬は新規抗生活習慣病薬として期待されている。アディポネクチン受容体 (AdipoR1) の活性は通常 AMP-activated protein kinase (AMPK) のリン酸化を指標に測定されるが、迅速かつ簡便な方法とはいえない。そのため、新規アゴニストのスクリーニング等にはより迅速かつ簡便なアッセイ法が望まれる。そこで本研究では AdipoR1 シグナルの迅速かつ簡便なアッセイ法 (Ca²⁺イメージング法および CellKey™ システムアッセイ) の確立をめざした。

[方法] AdipoR1 安定発現細胞は、HaloTag® を融合させたヒト AdipoR1 クローンを HEK293 細胞に発現させ、G418 による薬剤セレクトションにより作製した。AdipoR1 の発現は、HaloTag® と特異的かつ不可逆的に結合し蛍光を発する HaloTag® リガンドで染色し確認した。AdipoR1 活性の指標としての Ca²⁺ イメージング法は、緑色の蛍光を発する Ca²⁺ センサー-G-CaMP7 を同安定発現細胞に発現させ、アゴニスト刺激による細胞内 Ca²⁺ 濃度変化を測定した。また CellKey™ システムアッセイにおいては、底部に電極のついた 96well の専用プレートに細胞を培養し、アゴニスト刺激により変化する電気抵抗変化をリアルタイムで測定した。

[結果・考察] HaloTag® 融合 AdipoR1 安定発現 HEK293 細胞においては、細胞膜への AdipoR1 発現が認められた。さらにこの AdipoR1 安定発現細胞は Ca²⁺ イメージング法および CellKey™ システムアッセイにおいてアゴニスト濃度依存的な反応が見られた。従って本研究により、機能的な HaloTag® 融合 AdipoR1 安定発現 HEK293 細胞を樹立し、新規アディポネクチン受容体作動薬の迅速かつ簡便なスクリーニング系として G-CaMP7 を用いた Ca²⁺ イメージング法および CellKey™ システムアッセイが有用であることが示唆された。

P-8

がん性疼痛に用いられる医療用麻薬のオピオイド受容体に対する薬理学的特性の解析

○川合田恵美^{1,2)}、横山明信^{2,3)}、根本悦子^{1,2)}、佐藤茉莉^{1,2)}、西村瞳^{2,3)}、宮野加奈子²⁾、山川央⁴⁾、平山重人¹⁾、白石成二²⁾、長瀬隆弘⁴⁾、藤井秀明¹⁾、上園保仁²⁾

1)北里大学 薬学部 生命薬化学研究室、2)国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、3)東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、4)かずさ DNA 研究所 遺伝子応用研究室
yuezono@ncc.go.jp

【目的】本邦でがん性疼痛に用いられる医療用麻薬、モルヒネ、フェンタニル、オキシコドンは μ 、 δ 、 κ オピオイド受容体 (μ OR、 δ OR、 κ OR) のうち、主に μ OR を介して鎮痛作用を発揮することが知られているが、各薬剤で副作用発生の様式が異なること、さらに μ OR のみならず δ OR、 κ OR に対しても作用することが報告されている。しかし、それぞれの医療用麻薬の δ OR、 κ OR に対する作用は不明な点が多い。本研究では、 μ OR、 δ OR、 κ OR をそれぞれ安定的に発現する細胞を構築し、各医療用麻薬の受容体活性及び急性鎮痛耐性に関与する μ OR のインターナリゼーションの違いを明らかにすることを目的とした。

【方法】 HaloTag®、T7-tag、Myc-tag を各々融合した μ OR、 δ OR、 κ OR を安定発現する Human Embryonic Kidney 293 (HEK293) 細胞を作製し、細胞反応を電気抵抗変化として検出できる CellKey™ システムを用い、各医療用麻薬の薬物応答を解析した。 μ OR のインターナリゼーションは、新たに開発された pH 感受性 HaloTag® Ligand を用いてインターナリゼーションを経時的に可視化し、Cellomics™ ArrayScan® V^{TI} System により客観的に解析した。

【結果・考察】 CellKey™ アッセイの結果より、用いたすべての医療用麻薬は μ OR に対して最も高い活性を示し、各麻薬製剤における EC₅₀ はフェンタニル < モルヒネ < オキシコドンであった。モルヒネはすべての受容体に対し低濃度から活性が認められた。一方、オキシコドンは κ OR に対して活性が認められなかった。また、インターナリゼーション解析では、モルヒネ、オキシコドンは μ OR インターナリゼーションをほとんど引き起こさなかったのに対し、フェンタニルのみが顕著な μ OR インターナリゼーションを引き起こすことが明らかとなった。以上より、各医療用麻薬は μ OR に最も強い活性があるという特性を有しているにも関わらず、 μ OR インターナリゼーションに関しては異なる特性を有していた。このことが副作用発生の違いにも関与することが考えられた。

第7回
トランスポーター研究会九州部会
JTRAQ2014

~Reevaluation of Membrane Transport Protein~



2014年11月22日(土)

産業医科大学ラマツイーニホール

〈主催〉

トランスポーター研究会

〈後援〉

公益社団法人 日本薬理学会

P-9

CellKey™ System を用いたナルフラフィン誘導体の μ , δ , κ オピオイド受容体作動活性評価

○佐藤汐莉^{1,2)}、根本悦子^{1,2)}、川合田恵美^{1,2)}、横山明信^{2,3)}、西村瞳^{2,3)}、宮野加奈子²⁾、平山重人¹⁾、白石成二²⁾、長瀬博⁴⁾、藤井秀明¹⁾、上園保仁²⁾

1)北里大学 薬学部 生命薬化学研究室、2)国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、3)東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、4)筑波大学 IIS 創薬化学研究室

yuezono@ncc.go.jp

【背景・目的】オピオイド受容体は3つのタイプ (μ , κ , δ) が知られており、鎮痛作用には3つの受容体が関与し、依存性は μ 受容体が関与すると考えられている。 κ 作動薬であるナルフラフィンは2009年に止痒薬として上市されたが、鎮痛用量において鎮痛作用と鎮静作用の分離が十分にできなかったため、適応を鎮痛薬から止痒薬に変更して開発されたという経緯がある。薬物嫌悪性のない κ 作動性鎮痛薬を設計するためには、 κ 受容体に対して選択的に作動活性を発現させる必須構造を明らかにする必要がある。本研究では、新しい活性評価法として、評価対象細胞に標識化合物などを添加する必要のない、いわゆる label-free でアッセイできる CellKey™ System を用いることにより、作成したナルフラフィン誘導体の κ 受容体への作動活性、選択性の評価を行った。

【方法】 μ , δ , κ オピオイド受容体をそれぞれ安定発現する human embryonic kidney 293 (HEK293)細胞を培養し、CellKey™専用の96wellプレート上で培養した。その後各誘導体を添加し、受容体刺激で変化する細胞電気抵抗の変化をリアルタイムで CellKey™ System を用いて測定した。

【結果】本実験では合成したナルフラフィン誘導体を大きく3つに大別し評価した(①ベンゼン環を有する誘導体群、②ベンゼン環をシクロヘキセン環に置換した誘導体群、③ベンゼン環を除去した誘導体群)。その結果、①群は、 μ , κ , δ 受容体に対する EC_{50} および E_{max} はナルフラフィンの各受容体に対する値とほぼ同程度であり、 EC_{50} は κ 受容体が μ , δ 受容体と比較して最も小さかった。②群でも①と同様の傾向が認められた。③群は δ , κ 受容体に対する作動活性がナルフラフィンと比較して低下する傾向が見られた。

【考察】ナルフラフィンのベンゼン環部位は κ 受容体への作動活性上昇、および選択性の向上に寄与する。この活性上昇・選択性はベンゼン環をシクロヘキセン環へ置換しても認められた。

P-10

オピオイド受容体作動薬の新規スクリーニング法の確立及び同法を用いた δ オピオイド受容体作動薬の探索

○横山明信^{1,2)}、須藤結香¹⁾、宮野加奈子²⁾、白石成二²⁾、平山重人³⁾、林田康平³⁾、藤井秀明³⁾、長瀬博⁴⁾、樋上賀一¹⁾、上園保仁²⁾

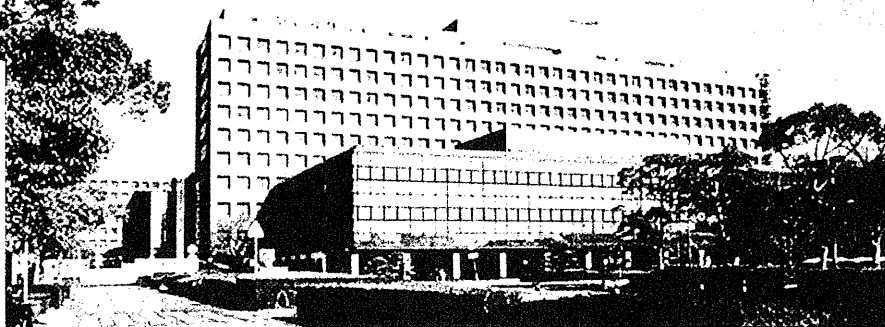
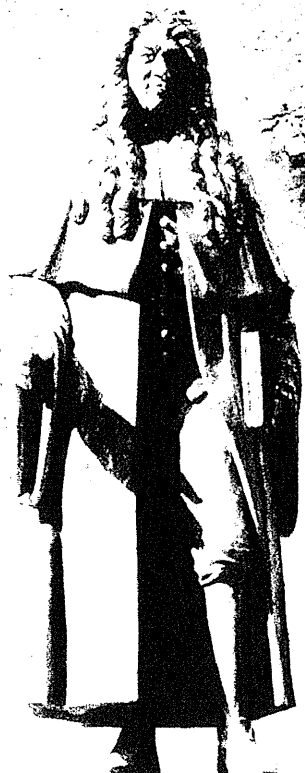
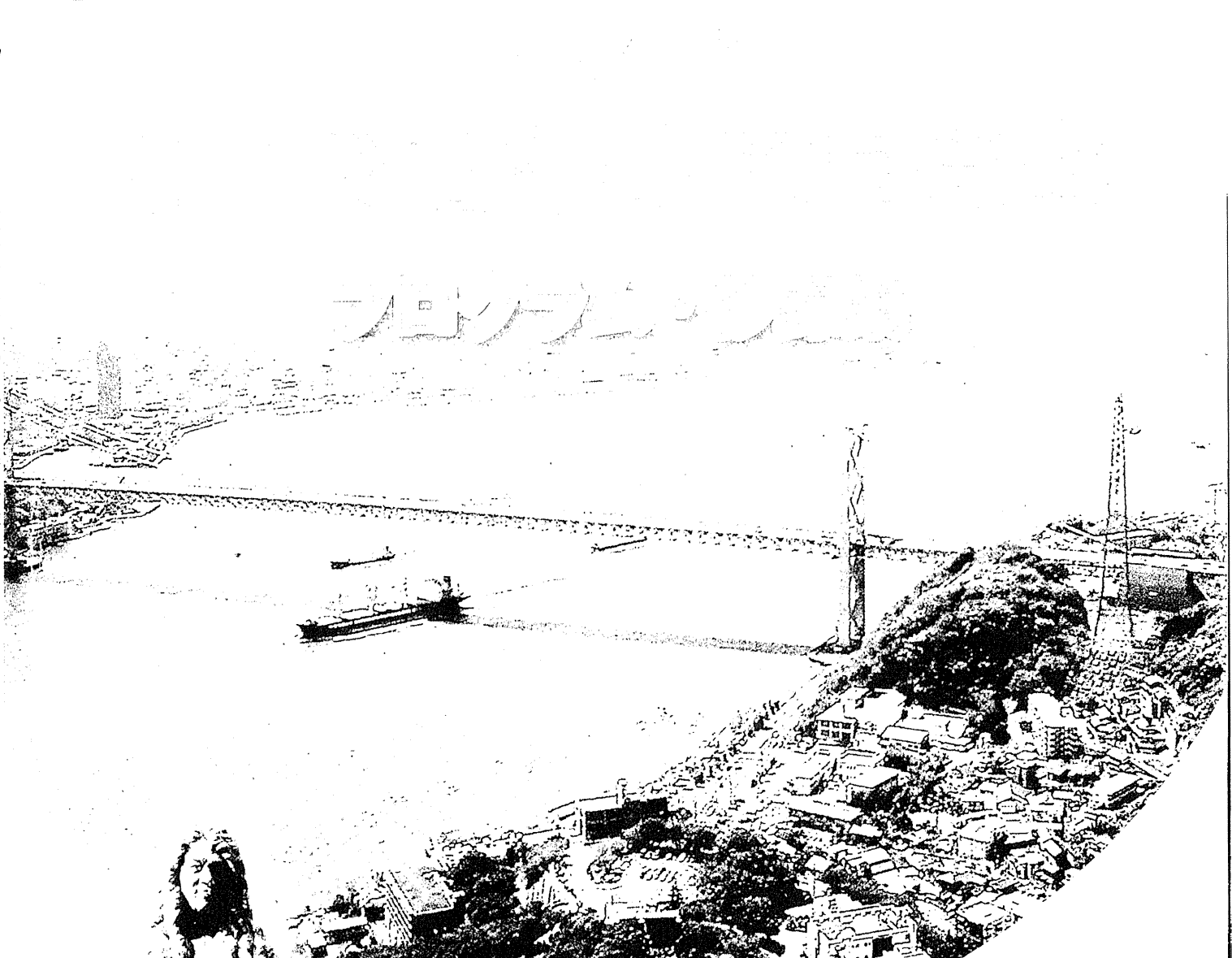
1)東京理科大学大学院 薬学研究科 分子病理・代謝学研究室、2) 国立がん研究センター研究所 がん患者病態生理研究分野、3) 北里大学 薬学部 生命薬化学研究室、4) 筑波大学 IIS 創薬化学研究室

yuezono@ncc.go.jp

【背景】オピオイド受容体は $G_{i/o}$ タンパク質に共役する G タンパク質共役型受容体(GPCR)に属し、 μ , δ , κ (MOR, DOR, KOR) の3種類のサブタイプが存在する。臨床で用いる医療用麻薬は MOR に対して高い親和性を有しているが、MOR は鎮痛作用に加え、依存性にも関与していることが問題である。そこで近年、依存の少ない新たな鎮痛薬ターゲットとして DOR 及び KOR に選択性の高い作動薬の創出が期待されている。本研究では、臨床薬として未だ上市されていない DOR に着目し、DOR 作動薬として設計された9種類の化合物について *in vitro* スクリーニングを行った。スクリーニング法として、ラベルフリーで、すべての GPCR 活性の測定が可能である CellKey™ System (以下、CellKey™) を利用した方法の確立を行い、その解析を行った。

【方法】CellKey™の原理は、各ウェルに電極を取り付けた96ウェル専用プレート上で細胞を培養し、アゴニスト処置による電極間の電気抵抗値の変化を受容体活性としてリアルタイムに測定する。本研究では、樹立した MOR, DOR, KOR 安定発現細胞株を用い、CellKey™による薬物活性評価を行った。加えて、医療用麻薬の耐性形成に関与していると考えられている受容体脱感作アッセイ法の確立を行い、同アッセイ法を用いて薬物スクリーニングを行った。

【結果】DOR 安定発現 human embryonic kidney 293 (HEK293)細胞に対して、DOR 選択的アゴニストである SNC-80 は濃度依存的な活性を示し、その活性は DOR 選択的アンタゴニストの Naltrindole により抑制された。次に、CellKey™を連続して2回行い、1回目と2回目の活性を比較することで受容体脱感作を評価した。その結果、急性耐性が問題となっている SNC-80 では脱感作が起こり、脱感作が生じにくいとされる DPDPE は脱感作をほとんど起こさなかった。これらの結果から、CellKey™を用いた受容体脱感作アッセイ法の確立に成功した。さらに確立した CellKey™によるスクリーニング法を用いて、新規 DOR 作動薬として設計された9種の化合物についてスクリーニングを行ったので紹介する。



2014年11月23日(日)

産業医科大学ラマツィーニホール

部会長 柳 原 延 章

産業医科大学 医学部 薬理学講座

P-5

PC12細胞でのH₂O₂誘導細胞死に対する抑肝散の効果

○古城戸綾¹、窪田香織^{1,2}、桂林秀太郎¹、高崎浩太郎^{1,2}、岩崎克典^{1,2}
 (福岡大・¹薬・臨床疾患薬理、²加齢脳科学研)

【背景】酸化ストレスは、脳内において、加齢や脳梗塞、アルツハイマー病などの神経変性疾患に関係があるといわれている。酸化ストレスは、細胞死の誘導、アポトーシス誘導の刺激になることも知られている。しかし、酸化ストレスは神経細胞死にどのような影響があるのか詳細はまだ不明であり、酸化ストレスによる影響や神経細胞死の分子機序の解明が求められている。そこで、神経モデル細胞であるPC12細胞において、酸化ストレスが細胞の生存・分化・増殖にかかわる経路に与える影響、さらに酸化ストレスによる細胞死に対する薬物の効果を検討した。我々はアルツハイマー病モデルラットにおいて抑肝散が海馬の神経細胞死を抑制することを報告している。そこで、抑肝散には酸化ストレスによる神経細胞死を抑制することが予想された。

【方法】酸化ストレスとしてH₂O₂処置を行った。H₂O₂処置によりPC12細胞の生存率に与える影響、H₂O₂処置による細胞死に対する抑肝散の効果を、WST-1 assayで測定した。アポトーシス実行因子であるCaspase 3、細胞の生存・分化・増殖などに関わるERK、Aktは、Western blot法を用いて測定した。

【結果】H₂O₂処置により細胞死が誘導され、Caspase 3はH₂O₂処置により活性化した。また、抑肝散はH₂O₂処置によって低下した細胞生存率を改善した。ERK、Aktは、H₂O₂処置によりいずれも活性化が見られた。その活性化は、抑肝散処置により促進した。

【考察】PC12細胞においてH₂O₂による酸化ストレス処置ではアポトーシスが起これ、ERK、Aktの活性化により、細胞の分化・増殖が促進している。抑肝散はH₂O₂酸化ストレス下で、細胞の分化・増殖をさらに促進し、アポトーシスを抑制していることが考えられる。酸化ストレスによる細胞死に関わる蛋白や因子の研究は、アルツハイマー病を始めとする神経変性疾患の治療薬につながると考える。

P-6

オピオイドκ受容体アゴニストナルフラフィン誘導体のCellKey™ Systemを用いた受容体作動活性評価

○佐藤沙莉^{1,2}、根本悦子^{1,2}、川合田恵美^{1,2}、横山明信²、西村 瞳²、宮野加奈子²、
 平山重人¹、白石成二²、長瀬 博³、藤井秀明¹、上園保仁²
 (1北里大・薬・生命薬化、2国立がん研・がん患者病態生理、3筑波大・IHS)

【背景・目的】オピオイド受容体は3つのタイプ(μ、κ、δ)が知られており、鎮痛作用には3つの受容体が関与し、依存性はμ受容体が関与すると考えられている。κ作動薬であるナルフラフインは2009年に止痒薬として上市されたが、鎮痛用量において鎮痛作用と鎮静作用の分離が十分にできなかったため、適応を鎮痛薬から止痒薬に変更して開発されたという経緯がある。薬物嫌悪性のないκ作動性鎮痛薬を設計するためには、κ受容体に対して選択的に作動活性を発現させる必須構造を明らかにする必要がある。本研究では、新しい活性評価法として、評価対象細胞に標識化合物などを添加する必要のない、いわゆるlabel-freeでアッセイできるCellKey™ Systemを用いることにより、作成したナルフラフイン誘導体のκ受容体への作動活性、選択性の評価を行った。

【方法】μ、δ、κオピオイド受容体をそれぞれ安定発現するhuman embryonic kidney 293 (HEK293)細胞を作製し、CellKey™専用の96wellプレート上で培養した。その後各誘導体を添加し、受容体刺激で変化する細胞電気抵抗の変化をリアルタイムでCellKey™ Systemを用いて測定した。

【結果】本実験では合成したナルフラフイン誘導体を大きく3つに大別し評価した(①ベンゼン環を有する誘導体群、②ベンゼン環をシクロヘキセン環に置換した誘導体群、③ベンゼン環を除去した誘導体群)。その結果、①群は、μ、κ、δ受容体に対するEC₅₀およびE_{max}はナルフラフインの各受容体に対する値とほぼ同程度であり、EC₅₀はκ受容体がμ、δ受容体と比較して最も小さかった。②群でも①と同様の傾向が認められた。③群はδ、κ受容体に対する作動活性がナルフラフインと比較して低下する傾向が見られた。

【考察】ナルフラフインのベンゼン環部位はκ受容体への作動活性上昇、および選択性の向上に寄与する。この活性上昇・選択性はベンゼン環をシクロヘキセン環へ置換しても認められた。



English >

> HOME

> ご挨拶

> 開催概要・年会組織

> プログラム

> 公募シンポジウム

> 事前参加登録

> 演題登録

> 参加者へのご案内

NEW

> 座長(オーガナイザー)・
発表者・審査員へのご案内

NEW

> 創薬オープンイノベーション企画
個別相談のご案内

受付中

> 協賛募集のご案内

> 会場のご案内

> 宿泊ホテルのご案内

> 託児室のご案内

> 市民公開講座

NEW

第88回 日本薬理学会年会

The 88th Annual Meeting of
The Japanese Pharmacological Society

第88回 日本薬理学会年会

医薬科学立国への革新

For the Next Innovation in Medical Science and Technology

会期 2015年 3月18日(水)▶20日(金)

会場 名古屋国際会議場

年会長 今泉 祐治 名古屋市立大学大学院薬学研究科
細胞分子薬効解析学分野 教授



フォトアルバム

1

My Schedule PAT.4663033 Program and Proceedings

[< 前へ戻る](#)[> 印刷](#)

演題

[< 前の演題](#)[次の演題 >](#)キーワードの入力 詳細検索 セッションリスト 日程表 人名索引 My Schedule ブックマーク ノート

シンポジウム

[S3F-30] シンポジウム30：G protein-coupled receptor (GPCR)の多方面からのアッセイ法による新たな作用機構の解明—今なお魅力的な創薬ターゲット、GPCRの新たな役割を探る。—● 2015-03-20 09:00 - 10:30  F会場 (1号館 4階 レセプションホール (東))

S3F-30-2

Cellular dielectric spectroscopyを用いた新たなGタンパク質共役型受容体活性評価

[演者] 宮野 加奈子:1

[著者] 宮野 加奈子:1, 須藤 結香:2, 横山 明信:1,2, 西村 瞳:1,2, 川合田 恵美:1,3, 佐藤 汐莉:1,3, 根本 悦子:1,3, 中島 一恵:4, 竹林 実:5,6, 森岡 徳光:4, 白石 成二:1, 榎上 賢一:2, 藤井 秀明:3, 仲田 義啓:4, 上園 保仁:1

1:国立がん研究センター研・がん患者病態生理, 2:東京理科大学・薬・分子病理代謝, 3:北里大・薬・生命薬化学, 4:広島大院・医薬薬保・薬効解析科学, 5:中国がんセンター・臨床研究部・精神神経科学, 6:国立病院機構呉医療センター・精神科

The G protein-coupled receptors (GPCRs) form the largest and the most versatile superfamily that share a seven-transmembrane-spanning architecture. GPCR signaling is involved in vision, taste, olfaction, and sympathetic/parasympathetic nervous functions; metabolism; and immune regulation, indicating that GPCRs are extremely important therapeutic targets for various diseases. In fact, several pharmaceutical companies have developed medicines that can modulate GPCR signaling pathways, which are estimated to be 30% in the market. Cellular dielectric spectroscopy (CDS) is a novel technology that employs a label-free, kinetic, cell-based assay approach for the comprehensive pharmacological evaluation of cells that exogenously or endogenously express GPCRs. Among the biosensors that use CDS technology, the CellKey™ system not only detects the activation of GPCRs but also distinguishes between signals through different subtypes of the G α protein (Gs, Gi/o, and Gq) on the same platform. In this symposium, we introduce the principles of CellKey™ system, evaluation of the GPCR activation, advantages and future prospects of this system.





English >

> HOME

> ご挨拶

> 開催概要・年会組織

> プログラム

> 公募シンポジウム

> 事前参加登録

> 演題登録

> 参加者へのご案内

NEW

> 座長(オーガナイザー)・
発表者・審査員へのご案内

NEW

> 創薬オープンイノベーション企画
個別相談のご案内

受付中

> 協賛募集のご案内

> 会場のご案内

> 宿泊ホテルのご案内

> 託児室のご案内

> 市民公開講座

NEW

第88回 日本薬理学会年会

The 88th Annual Meeting of
The Japanese Pharmacological Society

第88回 日本薬理学会年会

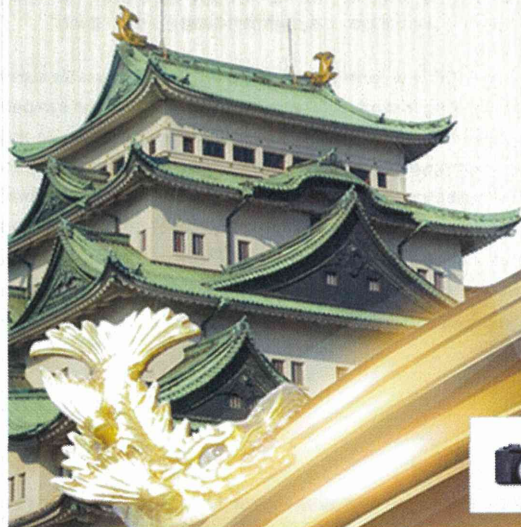
医薬科学立国への革新

For the Next Innovation in Medical Science and Technology

会期 2015年 3月18日(水) ▶ 20日(金)

会場 名古屋国際会議場

年会長 今泉 祐治 名古屋市立大学大学院薬学研究科
細胞分子薬効解析学分野 教授



フォトアルバム

3



My Schedule PAT.4663033
Program and Proceedings

[< 前へ戻る](#)[印刷 >](#)[詳細検索](#)[セッションリスト](#)[目次](#)[人名索引](#)[My Schedule](#)[ブックマーク](#)[ノート](#)

演題

[< 前の演題](#)[次の演題 >](#)

ポスター フリーディスカッション

細胞内・細胞間情報伝達①

● 2015-03-18 13:30 - 14:30 ● ポスター会場 (1号館 1階 イベントホール)

P1-114

本邦で用いられている医療用麻薬およびhydromorphoneのラベルフリーCellKey™システムを用いた特性解析 -μ、δ、κオピオイド受容体安定発現細胞を用いて

[演者] 根本 悦子:1,2

[著者] 根本 悦子:1,2, 川合田 恵美:1,2, 横山 明信:2,3, 宮野 加奈子:2, 佐藤 汐莉:1,2, 西村 鐘:2,3, 平山 重人:1, 白石 成二:2, 藤井 秀明:1, 上園 保仁:2

1:北里大・薬・生命薬化, 2:国立がん研究センター研・がん患者病態生理, 3:東京理科大学・薬・生命創薬・分子病理代謝

Opioid receptors belong to the G protein-coupled receptor (GPCR) superfamily and μ (MOR), δ (DOR), and κ (KOR) subtypes are identified. In Japan, morphine, oxycodone and fentanyl have been approved as opioid analgesics. Among them, morphine is the standard analgesic that activate all opioid receptors, preferentially MOR. Although some pharmacological profiles differ from each other, oxycodone and fentanyl also preferentially activate MOR. Adverse events including nausea and vomiting, constipation and delirium are often concerned among them and these effects are different based on the receptor-efficacy differences. Recently in Japan, hydromorphone is under development for an indication of controlling cancer pain. We have investigated profiles of hydromorphone using a novel label-free GPCR assay system CellKey™ with HEK293 cells stably expressing MOR, DOR or KOR. The CellKey™ system is designed to detect acute cellular responses by GPCR activation in 96-well formats. We investigated the effects of hydromorphone on the individual opioid receptor functions with this system, and will present data obtained from this new cellular-based functional assay.



全身状態の悪い終末期がん患者に対するモルヒネ持続投与の効果：多施設観察研究

森雅紀¹、松田能宣²、山田博英¹、小田切拓也⁶、金石圭祐³、松尾直樹⁴、松本禎久⁵、多田羅竜平⁶、渡邊紘章⁶、櫻井宏樹⁶、森田達也⁶

- 1: 聖隷浜松病院
- 2: 近畿中央胸部疾患センター
- 3: 東京厚生年金病院
- 4: 外旭川病院
- 5: 国立がん研究センター東病院
- 6: J-FIND Study Group

目的

終末期癌患者の呼吸困難に対するモルヒネ持続投与後の呼吸困難と意思疎通の程度の経時的変化を評価すること。

方法

多施設前向き観察的研究。呼吸困難を訴える (STAS \geq 2)、意思疎通が可能 (Communication Capacity Scale 第4項目 (CCS)=0-2) な ECOG PS3/4 の終末期癌患者を対象に、モルヒネ持続投与後 48 時間観察を行った。6 時間毎に呼吸困難 (STAS 0/1 vs 2-4) と意思疎通 (CCS 0-2 vs 3) の程度を評価し、A 群 (呼吸困難軽快・意思疎通可能) ; B 群 (呼吸困難持続・意思疎通可能) ; C 群 (呼吸困難軽快・意思疎通不可能) ; D 群 (呼吸困難持続・意思疎通不可能) ; E 群 (死亡) に分類した。

結果

2012 年 8 月から 2013 年 8 月まで 10 施設で計 80 人の登録があった。年齢の中間値は 68 才、原疾患は肺癌 49% や消化器癌 28% が多く、IV 期が 91%、ECOG PS4 が 70% だった。呼吸困難の原因は胸水 65%、肺腫瘍/肺転移 64%、感染症 33% だった。モルヒネ持続投与後の効果は、24 時間後は A 群 29% ; B 群 40% ; C 群 13% ; D 群 6% ; E 群 13%、48 時間後は A 群 33% ; B 群 23% ; C 群 10% ; D 群 4% ; E 群 31% だった。

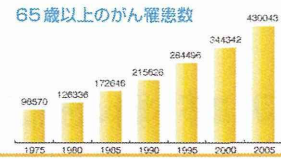
考察

呼吸困難を有する全身状態の悪い終末期癌患者にモルヒネ持続投与を行うと、2 日間を通し 3 割程度の患者で呼吸困難が改善し意思疎通も可能なままだったが、半数近くの患者が死亡または意思疎通が取れなくなった。モルヒネ持続投与開始時にこうした見通しを持つことで、より患者・家族の意向に沿った説明や意思決定支援が可能になる。

背景

①超高齢化社会の到来
65歳以上人口 3181万人 (高齢化率25.0%)
(2013年9月)
高齢のがん患者数の増加
独居・高齢者世帯の増加

②高齢者ががん治療特有の問題
1. 治療に対する忍容性の低下
2. 合併症への対応
3. 意思能力評価
4. 社会的支援の必要性:日常生活支援



外来受診日の間に
・症状変化への対応が困難
・サービス調整困難
・対応が遅れ緊急入院



患者の社会的背景に配慮をした
サービスの提供・調整
変化を見逃さないモニタリングが必要

SAFE-PAC (Support Aids for Fragile Elderly patients to ensure Proactive Coordinated care)の概要

【目標】

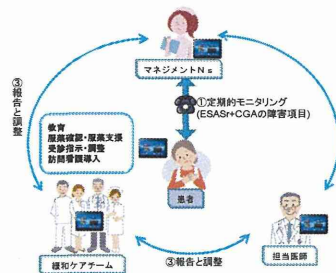
- ・支援の手薄な外来患者への適切な支援提供を目指したクラウド型情報共有プラットフォームを開発
- ・ケースマネジメントの手法に基づき、症状のコントロール不良や対応の遅れによる緊急受診・入院を予防するための先を見越した継続支援方法の開発

【構成要素】

1. ICTを用いた情報共有(患者-医療者、医療者間)
2. 高齢者の標準的アセスメント方法であるCGA (Comprehensive Geriatric Assessment)に基づく評価と計画作成
3. 看護師によるケースマネジメント手法

SAFE-PACの介入

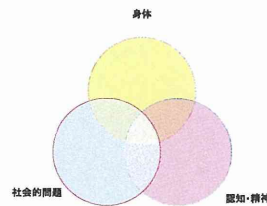
ICTによる情報共有プラットフォーム



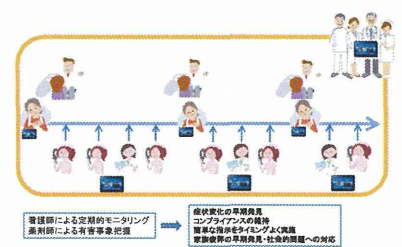
CGA (Comprehensive Geriatric Assessment)

疾患評価に加えて
以下の推奨評価項目で評価
1)基本的ADL, 2)手段的ADL,
3)認知機能, 4)気分,
5)コミュニケーション, 6)問題行動,
7)特別介護, 8)家庭環境

環境や社会状況を評価して
治療評価に役立てる。



定期モニタリングとケースマネジメント



実施可能性評価の概要

【対象】 65歳以上の進行肺がん(腺がん)
①経口の分子標的薬による治療中
②経過観察中

【プライマリ・エンドポイント】 介入の完遂率(6ヶ月)
【セカンダリ・エンドポイント】 QOL変化(3, 6ヶ月) (FACT-L, EORTC-QLQ-C30)
マネジメントで導入された医療・介護資源の数
介護負担度

【目標症例数】 50例

途中経過

【登録症例数】 50名(以下そのうち介入期間を終えた22名分の中間解析)
【年齢】 69歳(66-80歳)
【性別】 男性4名、女性18名
【治療内容】 gefitinib: 13名、erlotinib: 3名、crizotinib: 1名、CDDP+PEM+gefitinib: 1名、経過観察:2名

【モニタリング】
週2回のICTタブレットを用いた症状評価と電話モニタリングの併用

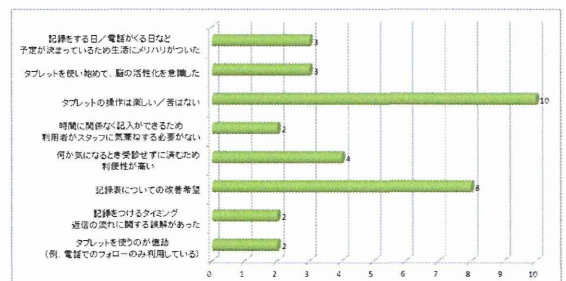
【モニタリングで抽出し対応した内容】

症状モニタリングと早期対応

皮膚症状(皮疹、爪囲炎): セルフケア指導15名、服薬指導5名、皮膚科受診7名
疼痛管理: 服薬指導5名、緩和医療科受診2名
消化器症状: セルフケア指導4名、服薬指導6名
呼吸器症状: 主治医受診調整4名
せん妄: 1名

サービスの導入・連携

介護保険: 3名、訪問看護:1名、ケアマネージャーとの連携:8名、院外薬局: 3名
家族サポート(面談、電話相談): 15名



考察

- ・支援の手薄な外来患者への適切な支援提供を目指したクラウド型情報共有プラットフォームを開発し、実施可能性を検討
- ・癌治療における継続支援の基本となるケースマネジメントの手法を開発
- ・現在登録を終了し、11月に介入終了を予定
- ・実施可能性とともに、支援内容や方法とその効果の流れについても検討し、ケースマネジメントの効果仮説を検討する

今後、診断時からの支援方法を検討中