

解症で死亡した事例を報告している。ゼブラフィッシュは、多産であることから同時に数多くの薬物の効果を確認でき、さらに幼魚の体は透明なため筋変性を生きたまま観察可能である。

この利点を活かし本研究では、25B-NBOMeを野生型ゼブラフィッシュに投与し、横紋筋融解症モデルフィッシュを作成、それらを解析することを目的とした。

【方法】 DMSOに溶解した0.005、0.05、0.5、or 5 μg/mLの25B-NBOMeを加えた飼育水で、孵化後4日目のゼブラフィッシュの幼魚を飼育、2日後に複屈折解析法を用いて筋肉の構造を観察した。各種の5-HT受容体拮抗薬を25B-NBOMeとともに同時投与し、筋構造変化に対する影響を観察した。

【結果】 25B-NBOMe投与により、生存率が低下、投与群での筋肉構造異常が惹起された。さらに筋線維を抗myosin抗体、筋膜を抗β-dystroglycan抗体を用いた免疫染色により、横紋筋融解症を表す筋線維と筋構造の異常が観察された。また、これらの25B-NBOMe投与による生存率の低下と筋構造異常は、5-HT_{2A}受容体拮抗薬aripiprazoleまたはritanserinの投与により、抑制された。

【考察及び結論】 25B-NBOMeが、5-HT_{2A}受容体を介してゼブラフィッシュに致死性の筋構造変化を伴う横紋筋融解症を惹起することを明らかにした。ゼブラフィッシュモデルでは、25B-NBOMe投与により惹起された致死性横紋筋融解症を形態学的に分析し、種々の5-HT受容体拮抗薬の筋融解に対する抑制効果を確認できた。このモデルは、薬物による横紋筋融解症の病態の解明、治療薬のスクリーニングにも応用可能であると考えられる。

P3-50.

核膜病関連心筋症におけるIL-6が担う役割

(病態生理学)

○華藤 恵美、山下 香、和田 英治

林 由起子

(医師・学生・研究者支援センター)

小島 瑞代

【目的】 エメリー・ドレフュス型筋ジストロフィー (Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy; EDMD) は、心筋症、関節拘縮、筋力低下を主徴とし、核膜蛋白

質をコードする遺伝子変異による遺伝性疾患である。EDMD 予後規定因子は心筋症や致死性不整脈に起因し、その詳細な発症機序は不明である。近年、インターロイキン6 (IL-6) は細胞膜に存在するIL-6受容体 gp130 (IL-6st) を介して、心筋線維芽細胞に働き心筋の線維化を促進するという報告がある。更に、IL-6受容体阻害剤 (MR16-1) の投与により心筋梗塞モデルマウスにおいて心筋の炎症を抑制し remodeling が改善したという報告がある。本研究では核膜病関連心筋症におけるIL-6の関与とMR16-1投与による効果の有無について検討する。

【方法】 EDMDモデルマウスとして、エメリン欠損マウス (EMD)、ヒトA型Lamin変異をノックインしたモデルマウス (H222P)、重複変異マウス (EH) を用いて、

- (1) 左心室組織像における線維化の定量
- (2) 心筋組織におけるIL-6とIL-6stのmRNAの定量
- (3) 心筋組織内におけるIL-6受容体の下流シグナルであるSTAT3、P-STAT3の発現

を検討する。

更に、野生型とH222PにMR16-1を投与しその効果を評価する。

【結果・考察】 野生型、EMDと比較しH222PとEHでは、左心室組織像で線維化を認めており、現在線維化の定量を行っている。また、MR16-1投与により核膜病関連心筋症におけるIL-6の役割について解析を継続している。

P3-51.

骨格筋・心筋から全身代謝、老化、高次脳機能まで～病態生理学分野研究紹介～

(病態生理学)

○林 由起子、佐々木光美、川原 玄理

和田 英治、華藤 恵美、山下 香

小島 瑞代、桃井 隆

(病態生理学、東京女子医科大学：小児科)

石黒久美子

(大学院博士課程1年公衆衛生学、病態生理学)

天笠 志保

病態生理学分野では、骨格筋研究を中心に、心筋症、糖・脂質代謝異常、老化、気分やコミュニケー

ションなどの高次脳機能に関する幅広い研究を行っている。骨格筋研究では、希少難病である遺伝性筋疾患の病因・病態解明を推進し、特にタンパク質品質管理の異常による筋疾患、核膜関連筋疾患を中心に、動物モデル（ゼブラフィッシュ、マウス）を用いた解析を行っている。同時に、これらの疾患は心筋症、代謝異常、中枢神経障害など多彩な症状を呈することから、幅広い病態研究を行っている。さらに、情動変化をfMRIを用いて解析する試みも行っている。

本演題ではこのような幅広い病態生理学分野の研究を紹介したい。

P3-52.

白色脂肪細胞における TRPM7 ノックダウンの効果

(細胞生理学)

○井上 華、小西 真人

(医学総合研究所)

稲津 正人

TRPM7 チャンネルはマグネシウムイオンを透過させる非選択性陽イオンチャンネルで、細胞内マグネシウムイオン濃度を制御していると考えられている。細胞内マグネシウムイオンは細胞の様々な生理機能を調節するが、脂肪細胞の生理機能であるインスリン依存性グルコース取り込み、アドレナリンによる脂肪分解、および各種アディポカインの分泌において TRPM7 チャンネルがどのような役割を果たしているのかは明らかになっていない。本研究では、RNAi を用いて培養脂肪細胞 3T3L1 細胞の TRPM7 チャンネルをノックダウンし、その生理機能への影響について検討を行った。3T3L1 細胞への siRNA の導入はリバーストランスフェクションにより行った。siRNA 導入2日後の TRPM7 mRNA 量を real-time PCR によって確認したところ、non-target siRNA を導入したコントロール細胞の 22±2% に減少していた。また、TRPM7 チャンネル電流をホールセルパッチクランプ法によって測定したところ、24±6% に減少していた。このように TRPM7 チャンネルがノックダウンされた細胞において、インスリン依存性グルコース取り込みは、コントロール細胞と有意な差は認められなかった。また、アドレナリン

による脂肪分解についても有意差はなかった。培養上清中に分泌されたアディポカインについては、ドットプロットを用いて検討を行った。検討した 38 種のアディポカインのうち、M-CSF、preadipocyte factor-1、RANTES についてはノックダウン細胞で減少し、resistin、serpin E1 については増加する傾向があることが分かった。

P3-53.

可溶性メラニン類縁体の免疫調節作用の解析

(大学院博士課程2年東京薬科大学免疫学教室)

○田島 克哉

(東京薬科大学免疫学教室)

山中 大輔、石橋 健一、安達 禎之

大野 尚仁

メラニンは、病原性の真菌、細菌、動物などが産生することから病態との関連性に興味を持たれている。クリプトコッカス (*Cryptococcus*) 症は HIV 患者の脳髄膜炎の原因菌として知られており、HIV 患者の *Cryptococcus* 症の死亡率は 30% 以上と高い。病原性を示す代表的な菌種は *C. neoformans* (Cn) と *C. gattii* (Cg) であり、莢膜とメラニンを産生する。莢膜は glucuronoxylomannan (GXM) から構成され、T 細胞やマクロファージの機能を抑制すると考えられている。Cn、Cg は Polyphenol 酸化酵素である Laccase を発現しており、メラニンを産生する。メラニンは多官能基を有する高分子 Polyphenol であり、免疫系を攪乱すると考えられている。しかし、メラニンは不溶性であり解析が困難である。そこで、本研究では Laccase を触媒とし L-DOPA (LD) と Homogentisic acid (HA) を用いて可溶性メラニン類縁体を作成し、その免疫機能調節作用について検討した。

【方法】 LD と HA、Laccase を混和し、室温で遮光し酸素制限条件下で反応させた。反応液の色調変化から重合反応の進行を確認した。反応停止後、透析により高分子画分を得た。生物活性の指標として、免疫細胞のサイトカイン産生への影響を *in vitro* で解析した。

【結果、考察】 LD と HA の重合反応により可溶性メラニン類縁体を得られた。得られた類縁体をマウス脾臓細胞培養系に添加するとサイトカイン産生の