

日本臨床薬理学会海外研修員報告書

－その3（研修経過報告書）－

日野ひとみ

Division of Clinical Pharmacology and Toxicology

The Hospital for Sick Children

<はじめに>

カナダのトロント病院（The Hospital for Sick Children）における、伊藤真也教授の下での研修も、2015年8月から始まり、早1年半が経ちました。

カナダの冬といえば、厳しい自然環境が予想されます。昨年の冬は比較的暖冬で、体感温度－20度が幾度かあったのみでしたので、今年はどうなるのか、期待と不安のいりまじった気持ちで冬を迎えました。蓋を開けると、数日の間隔で訪れる気温の激しい差に対応するために毎朝天気予報の体感温度のチェックは欠かせませんが、昨年と同じく、体感温度－20度が続くということはありませんでした。あまり寒い日が続くと心身ともに萎えてくるのですが、外出時のスノーパンツと帽子、マフラーなどを多用した調節により、平均体感温度が－15度までで、時々－20度という程度であれば、室内はセントラルヒーティングで快適ですし、カナダの冬を越せる自信ができました。

<研究経過について>

私は、「脳神経分野における薬とビタミン B2 について」というテーマをいただきました。それに基づき、次の二つの課題について取り組んでいます。一つは、抗がん剤として広く利用されている paclitaxel の副作用である神経障害へのビタミン B2 の有効性の評価で、もう一つの課題は、脳神経系におけるビタミン B2 トランスポーターの局在についての検討です。

現在の研究対象としている薬は抗がん剤として広く利用されている paclitaxel です。副作用として骨髄性のもの以外には神経障害が多く見られます。この神経障害は、患者さんの QOL に大きく作用するのはもちろんのこと、化学療法の継続にも関わり予後にも影響する因子となります。神経障害のメカニズムとして、ミトコンドリアなど種々のメカニズムが解明されつつありますが、未だ不明な点も多くあります。私たちは、paclitaxel の作用のメカニズムとしてトランスポーターに着目し、治療方法に新たな展開をもたらすことができないか検討しています。

ビタミン B2 は1925年にノーベル賞受賞者である Otto Warburg 博士が水溶性の黄色の物質として発見されたことで知られています。近年、ビタミン B2 トランスポーターが同定され、トランスポーターの遺伝的な障害による先天性疾患についても研究が進ん

でいます。私たちは、ビタミン B2 トランスポーターの障害が神経の軸索障害を引き起こすことに注目し、paclitaxel の副作用とも関連付けて解析を始めました。

前のご報告以降、トランスポーター遺伝子を細胞内に導入し、ラジオアイソトープを利用したビタミン B2 の取り込みを評価した実験系では再度の検討の結果、paclitaxel ではなく、その溶液である cremophor によりビタミン B2 の取り込み抑制があることが証明されました。

次に、論文で確立されているモデルではありますが、動物モデルづくりに着手しました。ビタミン B2 取り込み抑制が神経障害発症の機序に関与し、ビタミン B2 が治療薬として有効であるかどうか検討するために、動物モデルでの評価が必要と考えました。神経障害の評価は、私が同研究棟の他の研究室で痛み関連行動を指標とした痛みのテスト (von Frey test) を教わり、行うことにしました。Von Frey test は機械刺激を加え、急性痛を評価するテストです。網の下からマウスの足底に対して垂直にフィラメントを押し当て、動物が足を上げる機械刺激の閾値を測定します。覚醒動物を対象とするため、足底に対して垂直にフィラメントを押し当てるには熟練が必要とされます。最初のモデル作成が可能かどうかの時点で、cremophor を含む paclitaxel により十分な神経障害が起りませんでした。私の経験が浅いため、神経障害の評価方法が間違っていたのかもしれませんが、また、神経障害が何らかの原因で起こっていなかったのかもしれませんが、一時はこの動物モデルをあきらめるという方針も出されました。

しかし、論文からの考察を加えた結果、動物の年齢を変更することで適切なモデルができる可能性があることを訴え、再度の挑戦に許可を頂きました。その後、幸いにも無事モデルの作成に成功しビタミン B2 がその神経障害の発症を抑制できるかどうかの実験が進行中です。

動物実験と合わせて、それを支持する細胞実験による結果が必要となります。対象をミトコンドリアとし、蛍光色素を用いた実験計画を立て、進めていました。Paclitaxel や Cremophor の作用を示すためのモデル作成がうまくいかない原因を P 糖たんぱく質と同等し、P 糖たんぱく質阻害剤を使用し、モデル作成が成功するかと思ったのですが、それに加えて、ビタミン B2 自体が発する蛍光が邪魔をし、仮説を支持する結果が出ませんでした。

現在は、ビタミン B2 自体の蛍光が影響しない Luciferase を利用した解析に取り組んでいます。Luciferase は発光バクテリアやホタルなどの生物発光において、発行物質が光を放つ化学反応を触媒する作用を持つ酵素で、ミトコンドリアの機能解析として ATP の測定が可能となります。

また、細胞内への核酸の導入が比較的容易である HEK293 (ヒト胎児腎細胞) を使用して実験を開始しましたが、最終的には、後根神経節細胞を利用して証明したいと考え、Johns Hopkins University から細胞株を譲り受け、並行して解析を進めています。

また、もう一つの課題として、ビタミン B2 トランスポーターの脳神経系における局在も検討しています。まず、脳を皮質、白質、小脳に分け、どこにトランスポーターの分布が多いかを検討しました。次に、皮質と小脳に分布が多いということから、脳血管関門としての重要な脳毛細血管に分布しているという仮説を立て、脳毛細血管を分離することに着手しました。幸い、幾度かの失敗と工夫を重ね、毛細血管の分離には成功しましたが、脳毛細血管にはトランスポーターの分布は多くありませんでした。

毎週の全体ミーティングでは、伊藤先生とアドバイザー、博士候補生、修士候補生と議論を重ねることができます。また、毎日の実験においては、研究室の技師さんや修士課程前のボランティアの方が手となり足となり、研究成果を上げようと一体となって頑張ってくれています。そのためには、研究内容の十分な説明と、鋭い質問に対して十分な議論をすることが必要となりますが、それも私にとって有意義なトレーニングとなっています。

<最後に>

研究が上手く進まず、それに加えて厳しい寒さも心身ともに負担となっていたときに、スケートやスキー等のウィンタースポーツを息抜きとして家族で楽しむことで、大変助けられました。子供達の目的も昨年の雪に慣れることから、上達することに移行したため、大学時代に鍛えたスキーに関しては昔取った杵柄で、子供達の先生として尊敬のまなざしを獲得することにも成功しました。

残り少ない留学期間ですが、まとめあげられるよう日々精進して頑張りたいと思います。

留学生生活を継続するためにご尽力いただいている日本臨床薬理学会の先生方、日本製薬工業協会の皆さま、愛媛大学大学院小児科学講座石井榮一教授、同大学大学院薬物療法・神経内科野元正弘教授、公立学校共済組合四国中央病院鎌田正晴院長にこの場を借りて深謝いたします。