

様式(7)

報告番号	<div style="text-align: center;"> 甲 保 </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> 第 30 号 </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> 乙 保 </div>
論文内容要旨	
氏名	多田 智紀
題目	<p>Evaluation of effects of various drugs on platelet functions using phorbol 12-myristate 13-acetate-induced megakaryocytic human erythroid leukemia cells (ホルボール 12-ミリスタート 13-アセタート分化誘導による巨核球系細胞を用いた血小板機能に対する各種薬剤効果の評価)</p>
<p>血小板の「機能亢進」や「活性化」は、動脈閉塞性疾患の発症や再発に深く関与しており、各種抗血小板薬が疾患の治療や再発予防に用いられている。また、新規治療薬の開発によって血小板に対する各種薬剤の効果や作用の評価が重要となってきた。一方、血小板の粘着・凝集能は止血作用において必要不可欠であり、血小板の活性化にはCa^{2+}が重要な役割を果たしている。近年我々は、ヒト血小板の細胞内Ca^{2+}濃度($[Ca^{2+}]_i$)と血小板凝集との間に正の相関を認め、血小板の$[Ca^{2+}]_i$変動から「血小板の活性化・凝集機能」や「血小板機能に及ぼす各種薬剤の効果・作用」を評価することが可能であることを報告した。本研究では、血小板の「凝集機能」や「活性化」に及ぼす各種薬剤の効果や作用をヒトの血小板を使用せず、血小板の代替細胞として最適な血小板モデル細胞を選択・確定し、各種薬剤の薬剤評価解析法を確立することを目的とした。本研究では、多能性を有する赤白血病患者由来のHELを分化誘導剤(ホルボール 12-ミリスタート 13-アセタート:PMA)によって巨核球系細胞に分化誘導することで、各種薬剤の血小板機能に対する効果や作用を$[Ca^{2+}]_i$変動から間接的に評価可能とした。</p> <p>具体的には、HELを4日間PMA処理し、粘着能を持った巨核球系HELに分化誘導した後、その細胞浮遊液に蛍光色素(Fura2-AM)を加え、細胞内にロードした。次に、細胞数を1.0×10^6個/mlに調整した細胞浮遊液(480 μL)に各濃度の各種薬剤を添加、6分間反応後、トロンビン刺激時の$[Ca^{2+}]_i$を解析した。$[Ca^{2+}]_i$の解析は、細胞内に放出されたCa^{2+}とFura2の複合体を2波長で励起し、発生した蛍光の強度変化から各種薬剤における$[Ca^{2+}]_i$の変化量を算出した。本解析により、抗血小板薬であるアスピリン(ASA)とシロスタゾールの薬剤効果、さらに血小板凝集機能低下などの副作用が報告されている非ステロイド系消炎鎮痛剤であるイブプロフェン(IBU)や抗てんかん薬であるバルプロ酸Na(VPA)の血小板機能に及ぼす作用を$[Ca^{2+}]_i$変動から評価した。さらに本解析では、ASAとIBUおよびASAとVPAの薬剤同時併用における効果・作用について評価可能であった。</p> <p>以上の結果から、巨核球系に分化誘導したHEL細胞を「血小板モデル細胞」として使用する本解析法は、血小板に対する各種薬剤効果の評価測定法として有用である。また、本解析法は血小板を使用せず、血小板機能に対する適切な薬剤選択や投与量の決定ができる可能性があり、この分野での活用が期待でき、臨床への貢献度も高いと考えられる。</p>	