

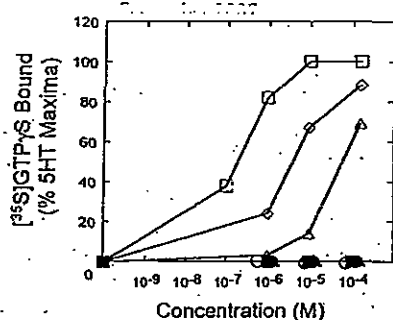


Fig. 3. Representative Concentration-Response Curves for [3 S]GTP γ S Binding by Tamiflu and GS4071 in the Rat Whole Brain Membranes

Specific [3 S]GTP γ S binding was measured in the presence of various concentrations of Tamiflu and GS4071 as described in Materials and Methods. The results are expressed as a percentage of the specific binding of 5HT at 10^{-4} M. The S.D. values are less than 5.0%. ▲: Tamiflu; ○: GS4071; ●: methamphetamine; ■: cocaine; △: DA; □: 5-HT; ◇: NE.

cal data, and that Tamiflu decreased the incidence of pneumonia to 1/3. Others suggested the relationship between Tamiflu administration and abnormal behaviors. A consensus has not been reached. Concerning anti-influenza virus agents other than Tamiflu, the Ministry of Health, Labor and Welfare also announced the incidences of abnormal behaviors after administration on May 14. According to this, 10 and 6 patients with abnormal behaviors after administration of Relenza/amantadine hydrochloride (denominators unpublished) have been reported since 2000 and 1998, respectively.²⁾ In the package inserts of amantadine hydrochloride, side effects on the central nervous system (hallucination, delusion) are described. They may be probable, since it is described that the agent inhibited DA re-uptake while promoting its release/synthesis in an animal (rats) experiment in the new drug application. However, in the new drug application of Tamiflu (materials regarding its pharmacological effects), it is described that Tamiflu may not influence any symptoms/activities, the central/autonomic nervous systems, smooth muscle, nor immune system based on the results of general pharmacological and toxicity studies using animals, and that neither Tamiflu nor its carboxylic acid metabolite (GS4071) influenced 19 receptors involved in nausea/vomiting in an *in vitro* study regarding the central nervous system.

In the United States, 153 patients (0.21/100000 persons) aged less than 18 years died of influenza in the season between 2003 and 2004.¹⁷⁾ They consisted of 0.75 persons aged less than 1 years, 0.30 persons aged 1 to 4 years, and 0.11 persons aged 5 to 17 years per 100000 persons. The incidence of influenza encephalopathy in children aged less than 6 years in Japan (2.5/100000 persons)^{4,5)} is higher than that in the United States. This reflects differences in genetic backgrounds.^{4,6)} As the number of patients in whom Tamiflu was prescribed was not reported,³⁾ we estimated the mortality rate

according to abnormal behaviors as 0.024/100000 persons from Roche's report.²⁾ The incidence of influenza encephalopathy is much higher than that of the abnormal behaviors occurred in those who were administered Tamiflu to treat influenza. Neither Tamiflu nor GS4071 inhibited the re-uptake of 3 monoamines in presynapses, promoted their release, or influenced G-protein binding in postsynapses in our *in vitro* assay system. It is thus indicated that mechanisms underlying the abnormal behaviors due to Tamiflu are different from those underlying the effects of psychoactive drugs. It has been suggested that Tamiflu inhibits encephalopathy-related death and the onset of pneumonia in children.¹⁸⁾ Therefore, this agent may be useful for treating influenza infection in high-risk groups consisted of children or elderly persons.¹⁹⁾ We propose that the relationship between Tamiflu and abnormal behaviors should be examined quickly using influenza-infected animals, and then Tamiflu must be administered, considering its risks and benefits.

REFERENCES

- 1) Eisenberg E. J., Bidgood A., Cundy K. C., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**, 1949—1952 (1997).
- 2) http://www.mhlw.go.jp/shingi/2007/05/s0502-1.html/B%27&extension=html&search_lang=japanese
- 3) <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2007/04/h0425-1.html>
- 4) Morishima T., *Nippon Rinsho*, **61**, 2006—2012 (2003).
- 5) http://www.city.shinjuku.tokyo.jp/division/340700yobo/infuruenza.htm#_top
- 6) Kido H., Yao D., Le T. Q., Tsukane M., Chida J., *Nippon Rinsho*, **64**, 1879—1886 (2006).
- 7) Dufkowski R., Thakrar B., Froehlich E., Suter P., Oo C., *Ward P. Drug Saf.*, **26**, 787—801 (2003).
- 8) Okamoto S., Kamiya I., Kishida K., Shimakawa T., Fukui T., Morimoto T., *Pediatr. Inf. Disease J.*, **24**, 575—576 (2005).
- 9) <http://www.mhlw.go.jp/topics/2006/10/dl/tp1020-2.pdf>
- 10) Nagai F., Nonaka R., Satoh K., Kamimura H., *Eur. J. Pharmacol.*, **559**, 132—137 (2007).
- 11) http://www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2003/tamiflu_dcardoc.pdf
- 12) Fukuta Y., Mita T., Fukuda N., Kanai M., Shibasaki M., *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 6312—6313 (2006).
- 13) Mita T., Fukuda N., Roca F. X., Kanai M., Shibasaki M., *Org. Lett.*, **9**, 259—262 (2007).
- 14) Satoh K., Nonaka R., Tada Y., Fukumori N., Ogata A., Yamada A., Satoh T., Nagai F., *Arch. Toxicol.*, **80**, 605—613 (2006).
- 15) Breivogel C. S., Walker J. M., Huang S. M., Roy M. B., Childers S. R., *Neuropharmacology*, **47**, 81—91 (2004).
- 16) Moore R. J., Xiao R., Sini-Selley L. J., Childers S. R., *Neuropharmacology*, **39**, 282—289 (2000).
- 17) Bhat N., Wright J. G., Broder K. R., Murray E. L., Greenberg M. E., Glover M. J., Likos A. M., Posey D. L., Klimov A., Lindstrom S. E., Balish A., Medina M. J., Wallis T. R., Guarner J., Paddock C. D., Shieh W. J., Zaki S. R., Sejvar J. J., Shay D. K., Harper S. A., Cox N. J., Fukuda K., Uyeki T. M., *N. Engl. J. Med.*, **353**, 2559—2567 (2005).
- 18) Nordstrom B. L., Sung I., Suter P., Szneke P., *Curr. Med. Res. Opin.*, **21**, 761—768 (2005).
- 19) Sugaya N., *Influenza*, **8**, 31—34 (2007).

27PW-am001

シクロスポリン投与ラットにおける耐糖能異常発現と膵β細胞障害
○坂田 晃¹, 鈴木 彰人¹, 平井 正巳¹(九州保健大薬)

【目的】シクロスポリン (CsA) は、長期投与により耐糖能異常を発現することが報告されている。耐糖能異常の発現には、膵β細胞破壊によるインスリン分泌不全の影響が示唆されていることから、本実験では、CsA 長期投与による耐糖能異常の発現に及ぼす膵臓障害について検討した。

【方法】6週齢のWistar/ST雄ラットに、20 mg/kg および 40 mg/kg の CsA (ネオラル[®]内服液) を、週日経口投与した。投与 14 日後および 28 日後に、絶食条件下で腹腔内ブドウ糖負荷試験 (IPGTT) を行い、その血糖値-時間曲線下面積 (AUC_G) を求めた。また、膵臓を摘出し、HE 染色法およびインスリン免疫染色法にて病理学的評価を行った。

【結果】IPGTT において、CsA の投与量や投与期間による違いは認められなかったものの、両濃度 (20 mg/kg, 40 mg/kg) で有意な血糖値上昇および AUC_G の増加が確認された。また、組織標本においては、14 日間 CsA (20 mg/kg) 投与群以外のラット群で膵島内分泌細胞が空胞化し、インスリン分泌不全が起きていることが観察された。

【考察】以上の結果より、CsA 長期投与による耐糖能異常は、膵β細胞の組織障害に先行して発現する可能性が示唆された。

27PW-am002

足むくみに対する硫酸マグネシウム含有炭酸ガス入浴の有効性
○渡邊 智¹, 石澤 太市¹, 谷野 伸吾¹(ツムラライフサイエンス)

【目的】足むくみは、日常良く実感し疲労感を伴う。足むくみの原因は立ちっ放しや座りっ放し等による血行不良や水分代謝が影響し、解消する為にマッサージや軽い運動などが行なわれている。入浴は、血流増加、水圧などにより足むくみ改善が期待されるが、入浴剤による報告はほとんどない。そこで、水分摂取が足むくみに及ぼす影響と、誘発後の入浴剤による改善について検討した。【方法】1. 水分摂取が足むくみに及ぼす影響について、健康者 7 名を対象に脈圧周囲径の変化を指標に検討した。試験室入室後、椅子座位の姿勢を保ち、水分摂取の有無による脈圧周囲径の影響を経時的に測定した。2. 硫酸マグネシウム含有炭酸ガス入浴剤使用による足むくみ改善に関して、健康者 9 名を対象に検討した。試験室入室後、足むくみを誘発し、入浴前後の脈圧周囲径、体積を測定した。3. 硫酸マグネシウム含有炭酸ガス入浴剤使用による足むくみ改善に関して、健康者 6 名を対象に検討した。試験室入室後、足むくみを誘発し、入浴前後の脈圧周囲径、血流、周囲径を測定した。【結果】1. 水分摂取の足むくみに及ぼす影響について検討した結果、水分非摂取群と比較して、水分摂取群が有意に脈圧周囲径を増加させた。2. 入浴剤群は、さら湯群と比較して、脈圧周囲径の有意な減少、体積の減少傾向がみられた。3. 入浴剤群は、さら湯群と比較して、脈圧周囲径の有意な増加、脈圧周囲径の減少、皮膚温の上昇傾向がみられた。【考察】椅子座位による脈圧のむくみは、水分摂取により助長された。硫酸マグネシウム含有炭酸ガス入浴剤は、さら湯と比較して、足むくみ誘発後の脈圧周囲径増加を抑制し、作用機序として皮膚血流改善が関与しているものと考えられた。

27PW-am003

型糖尿病マウスの皮膚欠損モデルにおけるヒト血漿由来フィブロネクチンと bFGF の併用効果
○村上 和樹¹, 平尾 豊¹, 仲野 篤史¹, 禰 英樹¹, 柏原 純一¹, 平山 文博¹(ベネシス 技方研究所)

【目的】Fibronectin (FN) はコラーゲン、ヘパリン、フィブリン等の多くの細胞外マトリックスや細胞との結合ドメインをもつ多機能ドメイン蛋白質であり、創傷治癒過程に重要な役割を演じていることが示唆されている。今回、ヒト血漿由来 FN を精製し、II 型糖尿病マウスの皮膚欠損モデルにおける basic-fibroblast growth factor (b-FGF) との併用効果について検討した。

【方法】FN はヒト血漿よりクリオプレシテーションを調整後、脱フィブリンゲン処理、硫酸分画、DEAE-Sephadex カラムにより精製した。薬理評価はマウスの背部皮膚に直径 18mm の円形欠損を作製し、薬物局所投与による創傷治癒面積を経時的に測定した。また、*in vitro* における HUVEC に対する作用を human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) を用いて検討した。

【結果及び考察】精製した FN は HPLC ゲルろ過および SDS-PAGE で単一蛋白であることを確認し、最終的に 50 mg/mL に調整した。II 型糖尿病マウスはコントロールマウスと比較して明らかに創傷治癒が遅延しており、b-FGF の投与により創傷治癒が促進されることを確認した。FN (2.5 mg/site) の単独投与では有意な創傷治癒促進作用は認められなかったが、b-FGF (20 mg/site) と併用することにより顕著な創傷治癒促進作用が認められた。また、*in vitro* における HUVEC に対する作用検討では、FN の細胞接着作用ならびに b-FGF の細胞増殖作用が確認された。以上の結果より、FN の細胞接着作用と b-FGF の細胞増殖作用が相乗的に働くことにより両者併用による創傷治癒促進作用が発揮される可能性が示唆された。

27PW-am004

培養ラット胎児へのタミフルの影響
○横山 篤¹, 秋田 正治¹(神奈川生命研)

【目的】今年もインフルエンザが猛威を振るっている。しかし、若年期において異常行動と特効薬タミフル (リン酸オセルタミビル<OTB>) との間はいまだ不明である。我々は培養ラット胎児を用いて、胎生期の脳神経系への OTB の影響を現状で報告する。

【方法】培養ラット胎児はラット胎児 11 日目から 48 時間の回転培養を実施した。OTB の処理濃度は、750 μg/ml 処理とし培養液内投与法で行った。

【結果】培養ラット胎児の成長・発育指標は心拍数・頂屈長・総体節数・総重量・頭長・神経管の画像解析値・外表情態で対照群と OTB 処理群とで影響を比較した。頭長において OTB 処理群は対照群に比べて 5%、神経管の画像解析値は 11% の低下を示した。それ以外の指標は対照群と差はなかった。外表情態などの異常は認められなかった。

【考察】若年のラット胎児の脳神経系の発育に影響ある点と、すでに出来上がった思春期の脳での異常が同一障害とは考え難いが、その関連性を追及していく。

27PW-am005

卵白アルブミン感作ラットの排尿筋過活動モデルに対する FYO-750 の効果
○近松 典子¹, 本 光宏¹, 栗田 直樹¹, 永田 治¹(富士薬品研究部)

【目的】下部尿路機能障害による膀胱知覚過敏に起因した頻尿にプロスタグランジンが重要な役割を担い、COX 阻害剤が夜間頻尿に有効であることが報告されている¹⁾。一方、基礎研究においても、シクロオキシゲナーゼ阻害剤による膀胱炎ラットの排尿筋過活動モデルに対して、COX 阻害剤が有効であることが報告されている²⁾。しかし、間質性膀胱炎の成因のひとつとされるアレルギーに起因した病態モデルでの COX 阻害剤の報告は無い。そこで、本試験では、卵白アルブミン (OVA) 感作ラットの排尿筋過活動モデルを作製し、COX 阻害作用を有する新規化合物 FYO-750 の効果をシストメトリ法により検討した。

【方法】7 週齢の雌性 Brown Norway ラットに OVA 10 mg/kg (Al(OH)₃ 100 mg/kg を含む) を 6-7 日間隔で 3 回皮下投与し、更に OVA 2 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間経尿道的に膀胱内に投与して感作した。最終感作後 11-18 日にウレタン麻酔下で膀胱腔を作製し、生理食塩液・硫酸プロタミン液灌流後に OVA 10 mg/mL 液を灌流 (0.04 mL/min) して排尿筋過活動を惹起した。FYO-750 (0.03-0.3 mg/kg) を経頸動脈に留置したカニューレを介して投与し、シストメトリ法により膀胱機能を評価した。

【結果・考察】FYO-750 は、OVA 感作ラットの排尿筋過活動モデルで認められた膀胱容量の低下を有意に改善したことから、下部尿路機能障害における頻尿に対して有用であることが示唆された。

- 1) Araki T et al., *Acta Med Okayama* 58: 45-49, 2004
- 2) Takagi M H et al., *J Pharmacol Sci* 95: 458-465, 2004
- 3) Angelico P et al., *BJU Int* 97: 837-846, 2006

27PW-am006

抗インフルエンザウイルス薬リン酸オセルタミビル (タミフル) のマウス体温低下作用: ザナミビル (リレンザ) およびジクロフェナクとの比較
○小野 秀樹¹, 永野 裕子¹, 松並 颯人¹, 杉山 慎一¹, 山本 昇平¹, 田辺 光男¹(名市大薬研)

【目的】リン酸オセルタミビル (OP) はヒト肝のカルボキシルエステラーゼ 1 (CES1) により加水分解を受け、抗インフルエンザウイルス活性を持つオセルタミビル・カルボキシレート (OC) になる。OC はノイラミニダーゼを阻害しウイルスの増殖を抑制する。OP はインフルエンザの発熱を効果的に低下させること、および OP 有害事象 (因果関係を問わない) として過度の低体温が報告されていることから、本研究においては、体温への OP の影響を調べた。また、OC と同様ノイラミニダーゼを阻害するザナミビル、およびインタビュフォームに「過度の体温下降」の記載があるジクロフェナクの体温低下作用の有無を調べた。OP と同様 CES1 で加水分解され、*in vitro* で OP 加水分解を強力に阻害することが知られている抗血小板薬クロビドグレルの、OP 体温低下作用への影響も調べた。

【方法】マウスの正常直腸体温を 10 分毎に測定した。投与量は塩基として表した。【結果】OP (30-300 mg/kg, i.p.) は直腸体温を用量に依って低下させた。300 mg/kg は体温を平均 3.8℃ 低下させた。経口投与によっても、OP (100-1,000 mg/kg) は体温を低下させ、その作用は持続した。ザナミビル (100 と 300 mg/kg, i.p.) およびジクロフェナク (1-30 mg/kg, i.p.) は体温を下げなかった。ジクロフェナク (30 と 60 mg/kg, s.c.) は OP (100 mg/kg, i.p.) の体温低下作用に影響しなかった。クロビドグレル (100 と 300 mg/kg, s.c.) は OP の体温低下作用をわずかに弱める傾向があった。

【考察】マウスにおける OP の分解は血液中に大過剰に存在すると考えられる CES1 により生じるため、クロビドグレルは CES1 を強く阻害できなかったと思われる。本研究で見られたマウスにおける OP の体温低下作用は、インフルエンザ発熱時の OP の解熱作用、および OP の低体温の有害事象と関係する可能性がある。

0-25 リン酸オセルタミビル投与がELマウスの聴覚誘発電位におよぼす影響

齊藤 賢一¹⁾、川上 康彦²⁾、桑原 健太郎²⁾、藤田 武久²⁾、藤野 修²⁾¹⁾日本獣医生命科学大学応用生命科学部食品健康環境学教室、²⁾日本医科大学医学部小児科

ヒトでは、インフルエンザの治療薬であるリン酸オセルタミビル投与による異常行動が報告されている。演者らは癲癇モデルマウス (EL mouse) にリン酸オセルタミビルを飲水による投与をし、脳波の経時的変化を記録して報告している。その結果では、投与開始 24 時間後の発作間欠期の棘波の持続時間が長くなることが記録された。しかし、投与開始 48 時間後の脳波には、これらの持続時間の長い棘波が見られなくなる興味深い結果を得た。このことから、演者らはリン酸オセルタミビルの投与 24 時間後の、マウスの聴覚誘発電位を記録し検討した。

【材料と方法】供試動物として、癲癇モデル動物である、26 週齢の EL マウス雄を対照群 3 匹および投与群 3 匹を用いた。リン酸オセルタミビルを飲水に混ぜてマウスに投与した。平均投与量はオセルタミビル 44mg/kg/day であった。投与開始 24 時間後にケタミン麻酔処置を施し、マウス脳硬膜に傷を着けることなく後頭部の頭蓋骨に 2 カ所の穴を開けた。ここに、エポキシコーティングした銀ボール電極を配置した。クリック音はマウス用に改造したクリスタルイヤホンを外耳道に挿入して聞かせて、聴覚誘発電位を記録した。

【結果】聴覚脳幹電位では蝸牛神経、神経核、オリブ核、下丘の成分が記録された。この潜時を投与群と非投与群と比較した結果、投与群の下丘までの潜時が短くなることが確認された。

0-26 妊婦から回収した食事記録票の分析：妊婦は葉酸は充分に摂取しているか？

岡井 いくよ¹⁾、早川 ちさ²⁾、下須賀 洋一³⁾、近藤 厚生⁴⁾¹⁾済生会福岡第二病院、²⁾明治乳業株式会社、³⁾小牧市民病院、⁴⁾津島リハビリテーション病院

【目的】厚生労働省は神経管閉鎖障害の発生リスクを低減するため、栄養バランスの取れた食事、並びに妊娠 4 週から妊娠 12 週まで葉酸サプリメント 400μg/day の内服を勧告した。妊婦が摂取する食事を栄養学的に検討した。

【方法と対象】2003 年から 2006 年の 4 年間に 336 名の妊婦から食事記録票を回収し、五訂日本食品標準成分表に基づき解析した。100 名 (30%) は葉酸サプリメントを内服していた。

【調査成績】葉酸の経口摂取量は過去 4 年間ほぼ 350μg/day 前後であった。妊娠前期の摂取量は 306μg/day、中期は 372μg/day、後期は 349μg/day であり、葉酸を最も大量に必要とする前期が最低値であった。厚生労働省が期待する 400μg/day を充足していたのは、336 名中の 82 名 (24%) であり、適切な食生活を過ごしている。しかし残る 254 名 (76%) は、不足分を葉酸サプリメントで補充すべきである。実際に葉酸サプリメントを補充していたのは 254 名中の 69 名 (21%) であり、185 名 (55%) は葉酸摂取量が絶対的に不足していた。

【結論】妊婦は食事から葉酸を平均 350μg/day 摂取している。しかし葉酸の需要量が最大となる妊娠前期の摂取量は最低であった (306μg/day)。妊婦の 55% は葉酸摂取量が絶対的に不足しており、神経管閉鎖障害児を妊娠する危険性を孕んでいる。

日本先天異常学会学術集会，第 48 回 (2008.06.28-30, 東京)

O-325 重症心身障害児(者)の喉頭ファイバーによる形態・唾液誤嚥の評価

聖隷三方原病院小児科

森 有加 池谷真苗 宮崎直樹 中島秀幸 木部哲也
大場 悟 横地健治 岡田真人

発達期脳障害では、呼吸障害・嚥下障害が高率に認められる。これらは、咽頭・喉頭の機能障害に由来する。嚥下に対しては、嚥下造影のみならず、喉頭ファイバーによる評価も近年進歩している。しかし、発達期重度脳障害を持つ児(者)の安静時喉頭ファイバー所見は十分研究されていない。そのため、今回嚥下障害を持つ重症心身障害児(者)を対象として喉頭ファイバーを施行し、その所見を検討したので報告する。対象は、2003年から2006年までの3年間に喉頭ファイバーを施行した70例(男性41例、女性39例)である。検査は、安楽な背臥位、又は体幹後退の介助座位にて施行された。喉頭ファイバー下の外観を、喉頭狭小化・喉頭蓋の形態・披裂部の腫脹・唾液の声門からの噴き出しについて分類し検討した。さらに、喘鳴の有無と程度・食事形態・経鼻胃管の位置についても比較検討した。喉頭狭小化は0(正常)から3(喉頭蓋が咽頭後壁に付着している)に分類し、43例(61%)に喉頭狭小化を認めた。喉頭蓋の形態は正常・矩形・U型・オメガ型に分類し、42例(60%)で何らかの変形を認めた。披裂部の腫脹は、その程度を0(正常)から3(披裂部切痕が固定できない)に分類し、61例(87%)で披裂部の発赤・腫脹が認められた。唾液の噴き出しは、貯留している唾液の性状を透明及び混濁粘調に分類し、さらにその程度を持続・時々・なしに分類した。57例(82%)で唾液の声門からの噴き出しが認められ、唾液の誤嚥は高率に認められることが示唆された。また、喘鳴や披裂部の腫脹を認める例は、唾液の噴き出しを認める例が多く、唾液誤嚥との一致率が高いことが推測された。

O-326 出生予定日のMRI FLAIR法所見と就学期神経学的予後

久留米大学小児科高次脳疾患研究所¹ ロンドン大学周生期脳研究所² 長野県立こども病院新生児科³ 杏林大学小児科⁴ 埼玉医科大学川越医療センター小児科⁵岩田敬介^{1,2} 岩田幸子^{1,2} 中村友彦³ 木原秀樹⁴ 日詰恵里子⁵
杉浦正俊⁴ 田村正徳⁵ 神田 洋¹ 前野泰樹¹ 松石豊次郎¹

背景：近年、超低出生体重児の長期フォローアップから、インタクトサバイバルを遂げたと考えられていた児が、学齢期以降に高率に学習障害を来すことがわかってきた。予定日前後のMRIは、1歳半頃までの発達と良好な相関を見せるが、学齢期の高次脳機能との関連は明らかになっていない。目的・方法：予定日前後に撮影されたMRI白質所見と学齢期の発達指数の関係を明らかにするために、210人の早期産児のMRIと周生期の臨床情報と長期発達予後と比較した。結果：FLAIR法における白質異常輝度領域は、予定日前後の限られた週数範囲においても、撮影時の修正週数と有意な相関があり、週数が小さいほど効率に観察された。多変量解析により週数の影響を加味すると、週生期の母体発熱の既往と脳室周囲白質軟化症の発症にも、FLAIR法の異常所見と正の相関が認められた。新生時期のFLAIR法異常所見は、6歳時の総合・運動発達指数(WISC-R)と有意な相関を見せた。結論：FLAIR法を用いることで、学齢期の発達異常を新生時期に予測できる可能性が示唆された。FLAIR法上の異常所見は、周生期の病因と関連があり、微細な白質異常を見ていると考えられた。FLAIR法はほとんどの施設で撮影可能なシーケンスであり、その低輝度域は、髄液に近い長い縦緩和時間から客観的に描出されるため、画像調整の影響を受けにくいと考えられ、軽度発達異常のスクリーニング手段として将来が期待される。

O-327 多発奇形を伴う発達遅滞症例の病因診断におけるMLPA法サブテロメア解析の有用性

慶應義塾大学小児科¹ 国立成育医療センター遺伝診療科² ファルコバイオシステムズバイオ事業本部³小崎健次郎¹ 小崎里華² 東 央晋³ 高橋孝雄¹

【背景】染色体末端部サブテロメア領域は構造異常の好発部位であり、通常の染色体検査(Gバンド検査)では検出できない微細なサブテロメアの構造異常が発達遅滞の重要な原因であることが明らかにされている。すでに全サブテロメアを標的とする網羅的なFISH検査が実用化されているが、検査費用が高額なために小児科診療の現場では普及していない。近年、特定の領域のゲノム領域のコピー数を計数する解析技術であるMLPA法が開発され、サブテロメア解析にも応用が可能となった。【方法】Gバンド検査の結果が正常なMCA/MR症例24例(孤発例22、同胞例2)を対象として、MLPA法によるサブテロメア解析をおこなった。【結果】24症例中5症例(21%)にサブテロメアの構造異常が認められ、その内訳は5p欠失+10q重複、5p欠失+17q重複、5p欠失+5q重複、16p欠失、18q欠失であった。5p欠失+10q重複症例および5p欠失+17q重複症例では片親が均衡型相互転座を有し、5p欠失+5q重複の症例では片親が5番染色体腕間逆位を有していた。【考察】診断不明のMCA/MR症例の病因確定にはMLPA法によるサブテロメア解析が有用である。サブテロメアの構造異常を認めた5症例中3症例では片親が染色体構造異常の保因者であり、次子の再罹患を考慮する必要がある。Gバンド検査が正常なMCA/MR症例の家族に遺伝カウンセリングを行う際には、サブテロメア解析を実施することが望ましい。MLPA法によるサブテロメア解析の検査コストはGバンド法と同程度であり、臨床検査として普及が期待される。

O-328 リン酸オセルタミビル経口投与によるマウス脳波の変化

日本医科大学小児科¹ 日本獣医生命科学大学²川上康彦¹ 斎藤賢一² 小泉慎也¹ 桑原健太郎¹ 藤田武久¹
藤野 修¹ 福永慶隆¹

【目的】現在、経口インフルエンザ治療剤リン酸オセルタミビル(以下オ剤)の安全性が再検討されてきている。昨シーズン、重篤な副作用と推測される事例が報告され、厚労省は年長児に対する原則投与禁止を勧告した。ごく最近海外でもin vitroでオ剤が幼弱ラット神経細胞の興奮を誘発すると報告された。今回我々は供試動物にオ剤を経口投与して行動を観察すると共に、我々が開発した手法によりマウス非拘束下で長時間脳波を測定し、電気生理学的検討を行った。【材料および方法】供試動物にはてんかんモデルマウスであるEIマウスの13週齢雄を用いた。マウス脳硬膜外に探查電極4個及び鼻端に基準電極1個の計5個を慢性埋め込み電極として配置した。埋め込み手術2日後に睡眠中発作間欠期脳波記録をし、これを対照脳波とした。この脳波記録以後オ剤を飲水に混ぜて投与し、投与前後で脳波を比較した。マウスは非拘束下で、脳波計を介してデジタルレコーダにて記録した。【結果】オ剤投与前のEIマウスの発作間欠期脳波には、1時間に1ないし数回のsubclinical paroxysmal dischargesを認めた。オ剤投与翌日に行動は過敏・多動になったが、痙攣発作増悪は認めなかった。しかしsubclinical paroxysmal dischargesの頻度は著明に増加し、持続時間も延長した。【結論】オ剤による神経興奮性誘発作用はin vivoにおいても電気生理学的に示唆された。

D17037

Oseltamivir, an Anti-influenza Virus Drug, Produces Hypothermia in Mice: Comparison Among Oseltamivir, Zanamivir and Diclofenac

Hideki ONO,* Yuko NAGANO, Noriaki MATSUNAMI, Shinichi SUGIYAMA, Shohei YAMAMOTO, and Mitsuo TANABE

Laboratory of CNS Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1 Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan.

Received December 18, 2007; accepted January 21, 2008; published online January 22, 2008

Oseltamivir phosphate (Tamiflu), an anti-influenza virus drug, is hydrolyzed by carboxylesterase to an active metabolite. The metabolite inhibits the influenza virus-specific neuraminidase. In this study, the effects of oseltamivir on normal core body temperature were studied in mice. Oseltamivir (30–300 mg/kg, intraperitoneally (i.p.) and 100–1000 mg/kg, orally (p.o.)) dose-dependently lowered the body temperature. The effects of oseltamivir (p.o.) continued longer than those of oseltamivir (i.p.), and approximately triple doses of oral oseltamivir were needed to produce the same peak effects as intraperitoneal oseltamivir. The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac (1–30 mg/kg, i.p.) did not affect body temperature, and (at 30 and 60 mg/kg, s.c.) did not interact with the hypothermic effects of oseltamivir (100 mg/kg, i.p.). Zanamivir, which also inhibits neuraminidase, did not produce hypothermia at doses of 100 and 300 mg/kg, i.p. Clopidogrel (100, 300 mg/kg, i.p.), which is metabolized by the same carboxylesterase, tended to decrease the hypothermic effects of oseltamivir (100 mg/kg, i.p.). These results suggest that the hypothermic effects of oseltamivir are due to its hydrolytic metabolite, and that the hypothermia observed in mice has some relationship to the antipyretic effects and severe hypothermia (adverse event) observed in influenza patients after taking oseltamivir.

Key words oseltamivir; hypothermia; zanamivir; diclofenac; mouse

The anti-influenza drug oseltamivir (Ro64-0796) is hydrolyzed to the active metabolite oseltamivir carboxylate (Ro64-0802, OC) by human liver carboxylesterase (CES), and OC inhibits the influenza virus-specific neuraminidase.^{1–4} Oral administration of the parent compound oseltamivir (OP) relieves the symptoms of influenza (cough, myalgia, nasal obstruction, sore throat, fatigue, headache, feverishness).⁵ OP has strong antipyretic effects, which become apparent within 24 h after taking the drug.⁶ In addition, an adverse event (unknown casual relationship)—hypothermia—after ingestion of OP has been reported. Forty-four cases of hypothermia had been reported to the MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan) up to March 20, 2007.⁷ Data released by the Food and Drug Administration (FDA) have also described hypothermia to 34 °C in 2 cases.⁸

In the present study, we investigated the effects of OP on normal core body temperature using mice, and found relatively strong hypothermic effects. Zanamivir, which is also a neuraminidase inhibitor and an anti-influenza virus drug, was compared with the effects of OP. Absorbed OP is hydrolyzed by human liver CES1 to the active metabolite OC.^{1,2} The hydrolysis is strongly inhibited by the anti-platelet drug clopidogrel, which is metabolized by the same esterase CES1.⁹ Therefore, clopidogrel was used to inhibit hydrolysis of OP in an attempt to study the involvement of OP or OC in hypothermia after OP administration.

As the antipyretic diclofenac carries a warning of possible severe hypothermia in children and the elderly with high fever in the package insert and an interview form,^{10,11} the effects of diclofenac on body temperature and its interaction with OP were also studied.

MATERIALS AND METHODS

Animals One hundred forty-six male mice (ddY strain, SLC Shizuoka, Japan) were kept for at least 7 d under a 12/12 h light-dark cycle before experiments with full access to water and food, except those used for oral administration of OP, which were fasted for more than 15 h.

All experimental protocols used were approved by the Animal Care and Use Committee of Nagoya City University and were conducted in accordance with the guidelines of the Japanese Pharmacological Society.

Measurement of Rectal Temperature At 5 weeks of age, the mice were used to study the effects of drugs on body temperature in an experimental room for animal behavior, which was maintained at 23–25 °C. Each mouse was placed individually in a Plexiglas cage (19×12×11 cm (depth)), then removed every 10 min, held loosely in a small cloth bag, and the core body temperature was measured using a digital thermometer with a resolution of 0.1 °C (MT-132, Mother Tool, Ueda, Japan). The thermometer probe was inserted 25 mm into the rectum.¹² After each measurement, the mouse was returned to its cage. Mice whose rectal temperature before drug administration was below 37 °C were not used for experiments. Drugs were administered after the temperature became stable.

Drugs The drugs used were oseltamivir phosphate (Tamiflu capsule, Chugai Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan), zanamivir hydrate (Relenza, dry powder inhaler, Glaxo-SmithKline Co., Tokyo, Japan), clopidogrel sulphate (Plavix tablet, Sanofi-Aventis Co., Tokyo, Japan) and diclofenac sodium (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.). A Tamiflu capsule (75 mg) contains 98.5 mg of oseltamivir phosphate and 64.5 mg of additives. The soluble additive is povidone, and the insoluble additives are pregelatinized starch, croscarmellose sodium, talc and stearyl fumarate sodium. The content of the

* To whom correspondence should be addressed. e-mail: hiono@phar.nagoya-cu.ac.jp