# 第９回

# 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成18年１月５日）

――学位論文抄録――

1. Effects of a westernized lifestyle on the association between fasting serum nonesterified fatty acids and insulin secretion in Japanese men

（西欧化した生活習慣が日本人男性における空腹時血清遊離脂肪酸値とインスリン分泌の関係へ与える影響）

亀井　　望
展開医科学専攻病態制御医科学講座（分子内科学）

【目的】日本人と日系米人の男性において，血中のNEFA 値とインスリン値の関係について調査し，NEFA が生活習慣の西欧化による高インスリン血症の一因となりうるかどうかを検討する。

【対象・方法】対象は2002年の検診を受診した日系米人男性67名，日本人男性220名であり，空腹時NEFA 値とブドウ糖負荷後のΣ IRI の関係について解析した。

【結果】Σ IRI を目的変数とし，年齢，BMI，NEFA，TG を説明変数とした重回帰分析で，NEFA は日本人では有意な因子ではなかった（P＝0.054）のに対し，日系米人では有意であった（P＝0.001）。BMI の代わりに HOMA-IR を含んだモデルでも同様の結果であった。

【結語】NEFA は日系米人において，肥満やインスリン抵抗性とは独立して糖負荷後インスリン値と関連した。西欧化した生活習慣が NEFA による糖負荷後のインスリン分泌への影響を増強する可能性がある。

2. Effective repair of a fresh osteochondral defect in the rabbit knee joint by articulated joint distraction following subchondral drilling

（ドリリングと動的関節牽引の併用はウサギ膝関節骨軟骨欠損の修復に有効である）

梶原　了治
展開医科学専攻病態制御医科学講座（整形外科）

【目的】関節牽引は荷重関節病変において臨床応用されているが，組織学的修復は不良とされている。一方でドリリングに代表される骨髄刺激手技は軟骨欠損の修復に汎用される手技であるが，荷重部病変に対する本法単独の成績は不良である。そこで動的関節牽引とドリリングの併用による荷重部軟骨欠損の治療に対

する可能性を検討した。

【方法】成熟日本白色家兎の後肢膝関節大腿骨内側顆荷重部に骨軟骨欠損を作成し，欠損部にドリリングを行った後，実験群には欠損部の減圧と膝関節の可動性の維持を目的として可動式創外固定器を膝関節を跨いで装着し，1.5 mm の関節牽引を行った。対照群には創外固定器を装着しなかった。家兎は4週，8週，12週で屠殺して欠損部の肉眼的所見，組織学的所見を評価した。

【結果】実験群の骨軟骨欠損部は軟骨様組織による欠損部の修復が得られた。4週では修復は不十分であったが，8週と12週では良好な修復が得られた。

### 3. Neural progenitor cells promote corticospinal axon growth in organotypic co-cultures

**（器官共存培養において神経前駆細胞は皮質脊髄路の軸索成長を促進する）**

亀井　直輔
展開医科学専攻病態制御医科学講座（整形外科学）

【目的】近年，脊髄損傷に対する神経前駆細胞移植の有用性が報告されているが，その作用機序については明らかにされていない。そこでラットの脳皮質と脊髄の器官共存培養を用いて神経前駆細胞移植が脊髄軸索再生に与える影響を評価し，その作用機序を明らかにすることを目的とした。

【方法】出生後3日目の SD ラットから採取した脳皮質と脊髄を接触させて2週間培養した（control 群）。培養開始1日後に GFP ラット由来の神経前駆細胞を移植したものを NPC 群とした。また神経前駆細胞を培養していた培養液のみを加えたものを NPC medium 群とした。DiI による順行性軸索トレースを行い，軸索成長を定量的に評価した。

【結果】NPC 群と NPC medium 群のいずれにおいても control 群と比較して有意に軸索成長が促進されていた。

【結論】移植した神経前駆細胞由来の液性因子が軸索成長促進に関与していると考えられた。

### 4. Serum interleukin 8 levels correlate with synovial fluid levels in patients with aseptic loosening of hip prosthesis

**（弛緩人工股関節患者の血清 IL-8 濃度は関節液濃度と相関する）**

田中　隆治
展開医科学専攻病態制御医科学講座（整形外科学）

【目的】人工股関節置換術後の患者の血清および関節液サイトカイン濃度を測定し，オステオライシス（OL）の補助診断としての可能性を検討した。

【対象と方法】単純X線にて OL を認めない OL（－）群24例，平均66.1歳，OL を認める OL（＋）群28例，平均65.6歳，健常群20例，平均63.0歳を対象とし，ELISA で TNF-α，IL-6，IL-8 の血清濃度を測定し各群間で比較した。また関節液サイトカイン濃度と血清濃度，OL 面積との相関を検討した。

【結果】血清 IL-6 と IL-8 は OL（＋）群が有意に高値であった。TNF-α と IL-6 は関節液，血清，OL 面積の間に相関を認めなかったが，関節液 IL-8 は血清と OL 面積の間に有意な相関を認めた。

【考察】IL-8 はプロテアーゼや PGE2，接着分子，過酸化分子の放出に関与し，人工関節の弛みに重要な役割を果たしている。血清 IL-8 が OL（＋）群で高値で，より局所の状態を反映する関節液 IL-8 とも相関を認め，OL のマーカーの1つとなり得る可能性が示唆された。

### 5. Maturation of Dendritic Cells and T Cell Responses in Sentinel Nodes in Breast Cancer Patients

**（乳癌のセンチネルリンパ節における樹状細胞の成熟とT細胞反応）**

松浦　一生
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（腫瘍外科学）

【目的】乳癌センチネルリンパ節（SN）の抗腫瘍免疫反応について解析した。

【対象・方法】SN 生検を施行された N0 乳癌症例70例。免疫学的解析に flow cytometry と real time RT-PCR 法を用い，定量解析した。

【結果】転移陰性症例において，SN と non-SN で比較すると，DC の成熟化と活性化分子および Th1 サイトカインの発現が SN において有意に低値であった。転移陰性 SN と転移陽性 SN について比較すると，転移陽性 SN において DC の成熟化と活性化分子および Th1 サイトカインの発現が有意に高値を示した。同時に Th2 サイトカインの発現および T-reg 細胞指標も有意に高値を示した。

【考察】SN に転移が成立する以前では，SN と non-SN を比較すると，SN の方が，抗腫瘍免疫反応が抑制されており，転移が成立することによって，DC が成熟化および活性化し，IL-12 産生，Th1 サイトカイ

ンが産生され，腫瘍特異的な免疫反応が誘導される。一方，regulatory T cell が誘導され，Th2 サイトカインの産生が誘導されると考えられた。

6. Systematic search for gastric cancer-specific genes based on SAGE data: melanoma inhibitory activity and matrix metalloproteinase-10 are novel prognostic factors in patients with gastric cancer
（SAGE データに基づく胃癌特異的遺伝子の網羅的検索：melanoma inhibitory activity と matrix metalloproteinase-10 は胃癌患者の新規予後因子である）

Phyu Phyu Aung
創生医科学専攻探索医科学講座（分子病理学）

胃癌 SAGE ライブラリーと生存に必須の正常臓器のライブラリーを比較して胃癌特異的発現遺伝子の候補を探索し，mRNA 及び蛋白の発現解析，機能解析等により，新規診断・治療標的の同定を試みた。胃癌特異的発現遺伝子の候補として54遺伝子を抽出，定量的 RT-PCR 法によって14正常臓器と 9 例の胃癌組織での発現を検索したところ，MIA, MMP-10, DKK4, GW112 等の 9 遺伝子が高特異性を示した。MIA, MMP-10 の蛋白発現は，癌の進行と有意に相関し，進行癌症例では予後との間に有意な相関を認めた。MIA 導入胃癌細胞株 MKN-28 では，empty ベクター導入株と比較して，浸潤能は有意に促進された。血中 MMP-10 値が 200 pg/ml 以上の症例は，健常者・胃炎患者では15%，胃癌では94%であった。MMP-10 は胃癌検出のよいマーカーであり，MIA と MMP-10 は胃癌の予後因子であることが示された。

7. Study of bile acid-induced biliary carcinogenesis
（胆汁酸と胆道発癌に関する検討）
1）Unique inhibition of bile salt-induced apoptosis by lecithins and cytoprotective bile salts in immortalized mouse cholangiocytes
（マウス不死化胆管上皮細胞における胆汁酸誘導アポトーシスはリン脂質および細胞保護性胆汁酸によって抑制される）
2）Glycochenodeoxycholate plays a carcinogenic role in immortalized mouse cholangiocytes via oxidative DNA damage
（グリコケノデオキシコール酸は酸化 DNA 傷害を介し，胆管上皮発癌に影響する）

小道　大輔
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（分子病態制御内科学）

原発性硬化性胆管炎や肝内結石症等の難治性胆汁うっ滞性肝疾患において胆道発癌のリスクが高いことは大きな問題である。本研究ではマウス不死化胆管上皮細胞株を用い，胆汁酸誘導アポトーシスおよび酸化 DNA 傷害に関する検討を行い，胆道発癌機構の解明を試みた。アポトーシス誘導はグリコケノデオキシコール酸（GCDC）暴露群にて最も強く，Caspase 3 活性（3.4倍）および 9 活性（1.4倍）の上昇を認めた。さらに reactive oxygen species 産生の増加（2 倍），8-hydroxydeoxyguanosine 陽性細胞の増加（4.5%）を認めた。一方で，酸化 DNA 修復酵素の発現は抑制された（−20%）。本研究により，胆汁うっ滞性肝疾患において，濃縮された GCDC の長期暴露による直接的な酸化 DNA 傷害に加え，修復系の破綻を伴うことが胆道発癌に大きく影響することが示唆された。

8. The nicorandil-induced vasodilation in humans is inhibited by miconazole
（ニコランジルによる血管拡張反応はミコナゾールにより抑制される。）

上田　佳子
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（分子病態制御内科学）

ニコランジルの血管拡張反応は ATP 感受性カリウム（K-ATP）チャンネル開口およびニトロ基による。広く臨床応用されているが，ヒトの生体内におけるニコランジルの血管拡張反応と NO, PGI2, EDHF（endothelium-derived hyperpolarizing factor）などの内皮依存性血管拡張物質との関連は明らかでない。

【方法】上腕動脈にニコランジルを動注し，前腕血流量（FBF）を測定。グリベンクラミド（K-ATP チャンネル拮抗薬），L-NMMA（NO 合成酵素阻害薬），インドメタシン（シクロオキシゲナーゼ阻害薬），ミコナゾール（非特異的 CYP450 阻害薬）存在下において FBF の変化を検討。

【結果】ニコランジル動注により，容量依存性に FBF は増加した。この FBF の増加はグリベンクラミド及びミコナゾール存在下において有意に抑制され，インドメタシン及び L-NMMA では変化はみられなかった。

【考察】アラキドン酸の CYP450 による代謝産物である EETs は EDHF の一つであるとされ，ヒトの生体内においてニコランジルによる血管拡張反応に EDHF の関与が示唆された。

9. Relationship between macular edema with branch retinal vein occlusion and intraocular cytokine levels.

（網膜静脈分枝閉塞症に伴う黄斑浮腫と眼内サイトカインとの関連性）

野間　英孝
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（視覚病態学）

【目的】眼内 Vascular Endothelial Growth Factor（VEGF）及び Interleukin-6（IL-6）が網膜静脈分枝閉塞症（Branch retinal vein occlusion: BRVO）に伴う黄斑浮腫の病因に関与しているか検討した。

【対象及び方法】白内障手術及び硝子体手術を受けた BRVO 患者より前房水（19例）及び硝子体液（25例）を採取した。VEGF 及び IL-6 濃度を enzyme-linked immunosorbent assays にて測定した。黄斑円孔及び黄斑上膜の症例をコントロールとした。網膜虚血の重症度は Scion Images を使用して測定した無灌流領域の範囲として評価した。黄斑浮腫の重症度は光干渉断層計を使用して測定した黄斑部網膜厚として評価した。

【結果】BRVO 患者における前房水及び硝子体液中の VEGF 及び IL-6 濃度はコントロール患者と比較して有意に高かった。前房水及び硝子体液における VEGF 及び IL-6 濃度は網膜虚血の程度と有意に相関した。前房水における VEGF 濃度と硝子体液における VEGF 及び IL-6 濃度は黄斑浮腫の重症度と有意に相関した。

【結論】眼内 VEGF 及び IL-6 は BRVO に伴う黄斑浮腫の発症及び進展に関与していることが示唆された。