

第15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11月2日）

—学位論文抄録—

1. A three-dimensional laminated paper model of the scaphoid from computed tomography
 （CT を利用して作成した舟状骨紙積層式三次元実体モデルの基礎的研究）

柿沢 秀明

展開医科学専攻病態情報医科学講座（放射線医学）

【目的】 遺体舟状骨を対象として紙積層式三次元実体モデルを試作し，①モデルの精度を検討，②舟状骨

骨折整復に対して臨床応用した1例を紹介する。

【方法】 ①遺体14手を CT 撮像し，得られたボリュームデータより三次元表面データを作成し，高速三次元造形機による三次元実体モデルを自動作成した。遺体舟状骨を解剖して取り出し，三次元実体モデルと比較し，その精度を検討した。

【結果】 ①遺体舟状骨実体モデルは高精度であったが，1-2%大きく作製された。③舟状骨腰部骨折例に対し，受傷側の実体モデルと健側の鏡面モデル（＝受傷前の仮想実体モデル）を作製し，手術に応用した。欠損部の癒痕組織の除去掌屈の矯正時に，長軸方向の

短縮予防のガイドとして、健側の鏡面モデルが有用であった。

【結語】CT ボリュームデータを利用して作成した紙積層式舟状骨実体モデルの精度は高かった。このモデルは舟状骨骨折整復に役立つと考える。

2. Predictive value of preoperative 3-dimensional computer tomography measurement of semitendinosus tendon harvested for anterior cruciate ligament reconstruction

(膝前十字靭帯再建術における 3D-CT による術前半腱様筋腱の評価)

安本 正徳

展開医科学専攻病態制御医科学講座 (整形外科学)

【目的】今回、膝前十字靭帯再建術前に 3D-CT にて計測した半腱様筋腱の長さおよびその断面積を、術中採取した半腱様筋腱のそれぞれの値と比較検討し、3D-CT による術前評価の有用性を検討することを目的とした。

【対象および方法】自家半腱様筋腱を使用して膝前十字靭帯再建術を施行された 28 症例に関して、術前に Volume rendering technique にて再構築した 3D-CT 画像より計測した半腱様筋腱の長さおよび断面積を、術中採取した半腱様筋腱の長さおよび移植腱の断面積と比較し検討した。

【結果】半腱様筋腱の長さは、3D-CT 計測値の方が術中計測値より有意に短い値であったが、両計測値間には高い相関関係を認めた。一方断面積に関しては 3D-CT 計測値と術中計測値間に相関関係を認めなかった。

【結語】半腱様筋腱の 3D-CT による術前評価は、膝前十字靭帯再建術を計画する上で有用である。

3. Importance of early environment in the development of Posttraumatic Stress Disorder-like behaviors

(心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の行動様式に与える早期養育環境の重要性)

今中 章弘

創生医科学専攻先進医療開発科学講座

(精神神経医科学)

幼少時期の不遇な体験が心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の発症における症状の重篤性にどのように

寄与するか、前方視的に検討を行った。SD ラットを用い不遇な幼少期の養育環境として母子分離 (NI: neonatal isolation) を行い、PTSD モデルとして Single Prolonged Stress (SPS) paradigm を用い、行動解析を行った。新生時期に母子分離を体験し、成獣後 SPS ストレスに暴露されたラットは不安行動、恐怖条件づけ、麻痺が相乗的に亢進した。母子分離がその後の PTSD 発症におけるストレス脆弱性および感受性を増強することが示された。恵まれた環境 (EE) により、母子分離と SPS を受けたラットでは、恐怖条件づけのみの改善を認めた。幼少時期に不遇な体験をし PTSD を発症するものは、早期の適切な介入により、海馬依存性の機能不全に効果があることが示された。

4. Effects of sunlight exposure on the human tooth enamel ESR spectra used for dose reconstruction (人歯エナメル ESR スペクトルを用いた線量再構築における太陽光照射の影響)

焦 玲

展開医科学専攻病態情報医科学講座

(線量測定・評価分野)

本研究は歯エナメル ESR 法を用いて精度よく線量評価するための基礎研究である。

γ 線だけではなく、太陽光照射によってもエナメル ESR 信号は誘起され、特に低線量評価には影響がある。本研究は太陽光照射に生成する ESR 信号の特性を調べた。結果として、太陽光照射によって 3 種類信号が生成した。S1 は放射線由来の信号 R と同じラジカルによって起こされることを明らかにした。信号 S2 と S3 は太陽光照射のみ起こされ、太陽光照射のマーカーとして利用できる。S2 はバックグラウンドと同じラジカル、又は他のラジカルによって起こされた混合ピークである可能性がある。

S1 の太陽光照射への感度と信号 R の γ 線への感度の比較の結果、太陽光照射は $7.8 \pm 0.5 \text{ mGy} \times \text{MJ}^{-1} \times \text{m}^2$ となることを明らかにした。広島県の太陽光照射率は $2.5 \text{ MJ} \times \text{m}^{-2} \times \text{h}^{-1}$ を仮定すると、太陽光照射の影響は $19.6 \pm 1.3 \text{ mGy} \times \text{h}^{-1}$ に相当する。

5. Cytoplasmic, but not nuclear, p16 expression may signal poor prognosis in high-grade astrocytomas

(細胞質内における p16 発現は、悪性星状細胞腫患

者の予後不良因子となりうる)

Muhamad Thohar Arifin
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(脳神経外科学)

【緒言】悪性グリオーマ患者の手術摘出組織を用いて、p16 の免疫組織染色を行い、生命予後との相関を調べた。

【方法】症例は、1989年3月～2004年6月までの間に広島大学病院脳神経外科で腫瘍摘出術と放射線照射を施行された悪性星神経膠腫患者62例。ホルマリン固定された手術摘出標本を抗ヒト p16 モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行って p16 抗体の染色性の有無 (+: -) と、細胞内局在 (核内: 細胞質内) を調べた。そして、p16 抗体の染色性の違いが生命予後に及ぼす影響を、術後の生存期間から Kaplan-Meyer 法によって生存曲線を作成し、log-rank テストを用いて有意差を検討した。

【結果】p16 染色は、62例中46例 (74.2%) が陽性を示し、細胞核内のみが陽性だったのは1例 (2%)、細胞質のみが陽性だったのは22例 (35%)、核内と細胞質の両者が陽性だったのは24例 (39%)。核内の p16 染色陽性の有無と術後生存期間との間に相関は認められなかったが、細胞質内 p16 染色陽性の有無との間では負の相関が認められ、計画当初の予想に反して、細胞質内での p16 染色が陽性だと悪性星神経膠腫患者の生命予後は不良であった。

【結論】High grade astrocytoma 患者において、核ではなく細胞質に p16 陽性であることが予後不良因子であることが示された。p16 の細胞内局在は p16 の不活性化のメカニズムと考えられた。High grade astrocytoma 患者の予後判断に際しては、p16 の細胞質または核における局在が利用できる可能性がある。

6. Effects of acute administration of caffeine on vascular function

(カフェイン急性投与の血管機能への影響)

梅村 隆史
創生医科学専攻探索医科学講座 (心臓血管生理医学)

【背景】カフェインの心血管病に及ぼす影響に関しては広く研究されているが、血管機能への直接的な作用に関してはほとんど研究されておらず不明である。

【目的】カフェインの血管機能に及ぼす影響につい

て検討した。

【方法】対象はカフェインの習慣的摂取のない若年健康常男性20人とし、二重盲検法にて2群に分けた上で、カフェイン (300 mg) もしくはプラセボ内服投与前後での内皮依存性血管拡張反応と内皮非依存性血管拡張反応を前腕血流量の変化にて評価した。

【結果】カフェイン投与は収縮期、拡張期血圧を有意に上昇させたが、心拍数には影響を与えなかった。更にカフェイン投与は内皮血管拡張反応を増強させたが、内皮非依存性血管拡張反応は変化させなかった。

【考察】カフェインの昇圧作用と血管内皮機能改善作用が示され、そのバランスが心血管病進展に関与している可能性が示唆された。

7. Intra-aortic injection of propofol prevents spinal cord injury during aortic surgery

(プロポフォールの大動脈内投与による大血管外科手術中の脊髄傷害の予防)

熊谷 元
展開医科学専攻病態制御医科学講座 (外科学)

【目的】プロポフォールの分節遮断大動脈内注入による、経頭蓋刺激運動誘発電位 (MEP) の変化、脊髄保護作用の有無について検討した。

【方法】30分間の大動脈遮断による脊髄虚血を行った。ビーグル犬18頭を3つに分け、1群は遮断大動脈内に生理食塩水 20 ml を注入、2群はプロポフォール 1.5 mg/kg を静脈内投与、3群はプロポフォール 1.5 mg/kg を遮断大動脈内に注入した。MEP は大動脈遮断前、中、遮断解除後に測定、神経学的・病理学的評価も行った。

【結果】3群の MEP は、1、2群と比べ注入1、4分後は有意に低値であったが、注入30分後は有意に高値であった。虚血24時間後の Talrov score、脊髄前角の残存正常運動神経細胞数は、3群が1、2群と比べ有意に高値であった。

【結論】プロポフォールの分節遮断大動脈内注入は、MEP を速やかに有意に低下させ、さらに脊髄保護作用もあることが確認された。

8. Cold spinoplegia and transvertebral cooling pad reduce spinal cord injury during thoracoabdominal aortic surgery

(胸腹部大動脈手術における脊髄保護液と経椎骨的冷却パッドの併用による脊髄保護効果の検討)

井坂 光宏
展開医科学専攻病態制御医科学講座 (外科学)

【背景】胸腹部大動脈瘤手術における脊髄虚血性障害による対麻痺は重篤な合併症の一つである。対麻痺予防としての脊髄局所冷却法の確立を目指し冷却生理食塩水（冷生食）の分節遮断動脈内注入に経椎骨的冷却パッドを併用する方法を検討した。

【方法】ウサギを3群（各群6羽）に分けた。1群（温生食 37℃, 5 ml）, 2群（冷生食 3℃, 5 ml）は遮断直後と5分後の2回分節遮断動脈内に注入した。3群は2群の方法に経椎骨的冷却パッドを併用した。術中直腸温と腰髄温を測定し、術後8, 24, 48時間後に後肢の運動機能を判定した後、病理学的検討も行った。

【結果】術後48時間後の後肢運動機能は1群は全て対麻痺、2群では遅発性対麻痺を認めたが、3群の運動機能は保たれていた。脊髄の冷却も前角神経細胞数も3群が他の2群に比べ有意に優れていた。

【結論】冷生食の分節大動脈内注入と冷却パッド併用による脊髄局所冷却法は脊髄保護効果を認めた。

9. High glucose concentration induces elevated expression of anti-oxidant and proteolytic enzymes in cultured human retinal pigment epithelial cells

（培養ヒト網膜色素上皮細胞において高濃度グルコース刺激は抗酸化酵素と蛋白分解酵素の発現を亢進させる）

横山 知子
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（視覚病態学）

【目的】網膜色素上皮細胞において、高グルコース刺激で発現が変動する蛋白質をプロテオーム解析の技術を用い解析する。

【方法】細胞は 5.5 mM のグルコース濃度で4日間培養後、高グルコース群は 33 mM, 正常グルコース群は 5.5 mM グルコースで48時間培養した。2次元電気泳動像を作成し、両群間で変動を認めたスポットを質量分析計で解析した。

【結果】高グルコース群で、cathepsin B・glutathione peroxidase・heat shock protein 27 は発現亢進、protein disulfide isomerase・ribosomal protein P0 は発現低下していた。また高グルコース群の Cu/Zn superoxide dismutase では等電点の変化、活性低下を認めた。

【結論】網膜色素上皮細胞は、高グルコース刺激によって抗酸化酵素や蛋白分解酵素に発現の変動を認めた。

10. Effect of paroxetine on enhanced contextual fear induced by single prolonged stress in rats (シングルプロロングドストレスを用いた、PTSDモデルラットにみられる文脈恐怖の亢進に対するパロキセチンの効果)

高橋 輝道
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（精神神経医科学）

Single prolonged stress (SPS) パラダイムは、外傷後ストレス障害 (PTSD) にみられる神経内分泌特徴を再現する事から PTSD モデルの一つと考えられている。本研究では、SPS ラットの不安・恐怖行動を調べ、SPS モデルの行動学的妥当性を検討し、加えて PTSD の治療に用いられる選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の一つであるパロキセチンの効果を調べた。SD ラットを用いて SPS (拘束ストレス2時間、強制水泳20分、エーテル深麻酔) を負荷後、恐怖条件付けを行い、24時間後のすくみ行動を測定した。パロキセチンは SPS 負荷後に投与した。SPS 負荷群では有意にすくみ行動が亢進し、亢進したすくみ行動はパロキセチンにて改善された。SPS パラダイムは行動学的に PTSD モデルとして妥当であり、また SPS 負荷による過剰な不安・恐怖行動に対してパロキセチンは効果的であると考えられた。

11. Nuclear positioning of the *BACH2* gene in BCR-ABL positive leukemic cells (BCR-ABL 陽性白血病細胞における *BACH2* 遺伝子の核内局在)

小野 厚
創生医科学専攻病態探究医科学講座（細胞再生学）

BCR-ABL 陽性白血病細胞株 BV173 に分子標的治療薬イマチニブを処理して ABL チロシンキナーゼ活性を抑制すると転写抑制因子 *BACH2* の発現が誘導される。*BACH2* 遺伝子の発現制御と、主要な遺伝子発現抑制領域であるセントロメアヘテロクロマチンと核周辺部ヘテロクロマチンとの関連を検討するために、FISH 法を用いて 6q15 に位置する *BACH2* 遺伝子と6番染色体セントロメアの距離および *BACH2* 遺伝子の核周辺部への局在を検討した。BV173 細胞ではイマ

チニブ処理により *BACH2* 遺伝子と6番染色体セントロメアとの距離が増大した。*BACH2* 遺伝子は核周辺部へ局在しイマチニブ処理により変化しなかった。BV173 ではイマチニブにより6番染色体セントロメアヘテロクロマチンによる *BACH2* 発現の抑制が解除され、*BACH2* の発現が誘導されたことが示唆された。

12. Gene Delivery of Paraoxonase-1 Inhibits Neointimal Hyperplasia after Arterial Balloon-Injury in High-Fat Diet Rabbits

(Paraoxonase-1 の遺伝子導入は高脂肪食ウサギ balloon injury モデルにおける内膜肥厚を抑制する)

三好 美和

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(分子病態抑制内科学)

【背景】Paraoxonase-1 (PON-1) は酸化リン脂質を疎水化する高比重リポタンパク質 (HDL) 関連の酵素であり、低比重リポタンパク質 (LDL) の酸化を抑制することが知られている。PON-1 は動脈硬化の遺伝子治療への応用が可能であると考え、今回我々はセンダイウイルスを用いて PON-1 遺伝子を動脈硬化病変に過剰発現させてその効果について検討を行った。

【方法・結果】4週齢のウサギに、2%高脂肪食を8週間投与し、総腸骨動脈を balloon injury 施行した後 PON-1 遺伝子群 (n=7) とコントロール群として EGFP (n=4) を組み込んだセンダイウイルスを局所的に投与した。7-10日後に屠殺し2群間の比較検討を行った結果、PON-1 遺伝子群ではコントロール群に比し、lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) の発現はほとんど完全に抑制されており、マクロファージの集簇が抑制され、内膜肥厚については63%、

動脈硬化プラークの形成については87.5%の抑制が認められた。

【結論】PON-1 の局所的遺伝子導入は酸化ストレス抑制を介して抗動脈硬化的に働くことが示された。PON-1 の遺伝子導入が動脈硬化予防の治療的戦略として有用である事が示唆された。

13. Neuroprotective effects of erythropoietin on glutamate and nitric oxide toxicity in primary cultured retinal ganglion cells

(培養網膜神経節細胞におけるグルタミン酸および一酸化窒素毒性に対するエリスロポエチンの保護効果)

山崎真紀子

創生医科学専攻先進医療開発科学講座 (視覚病態学)

網膜神経節細胞 (RGC) は、さまざまな眼疾患で障害される。エリスロポエチン (Epo) は造血細胞とともに神経細胞でもアポトーシス抑制効果が示されることから、ラット初代培養 RGC におけるグルタミン酸および一酸化窒素 (NO) 毒性に対する Epo の保護効果およびその機序を脳由来神経栄養因子と比較し検討した。Epo 受容体の発現を RT-PCR 法および2重免疫染色法で確認した。RGC を Epo を添加した無血清培地で培養し、グルタミン酸あるいは NO 供与体 (SNP) を加え培養し、生存率を XTT 法で検討した。Epo を添加するとグルタミン酸・NO 毒性は有意に抑制された。その機序として Bcl-2 ファミリー因子の発現を real time PCR 法で検討した。NO 毒性により Bcl-2 の発現が低下したが、Epo はその発現抑制を改善した。以上から、Epo は眼疾患の神経保護治療に有用である可能性が示唆された。