

## 第508回 広島大学医学集談会：No.4, No.10

## 第19回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成19年5月7日）

## —学位論文抄録—

1. *Helicobacter pylori* - associated gastritis is related to *babA2* expression without heterogeneity of the 3' region of the *cagA* genotype: An analysis using gastric biopsy specimens  
 (ヘリコバクターピロリ起因性胃炎は *cagA* 遺伝子 3' 区域の表現型に関わらず *babA2* 遺伝子発現と関連する：胃生検組織を用いた検討)

謝 雪飛

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)

【背景】*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染に伴う組織学的胃炎は胃癌の発生源として重要である。今回、*H. pylori cagA*, *babA2* の発現と組織学的胃炎の関連について検討した。従来の報告では、培養された *H. pylori* のコロニーから DNA を抽出し、検討した研究がほとんどである。本検討では胃生検組織を用い、さらに体部と前庭部を区別して検討を行った。

【方法】対象は36名の胃炎患者である。前庭部、体部の生検組織から mRNA を抽出し、RT-PCR, direct sequencing にて *H. pylori babA2*, *cagA* の表現型を検討した。同時に生検組織を使って、組織学的胃炎を評価した。さらに RIA 法を使用して、血清 pepsinogen (PG), gastrin 値を測定した。

【結果】*babA2* 遺伝子の発現型が前庭部と体部で異なる症例は9例(25%)であり、同一胃内での heterogeneity を認めた。一方、*cagA* 遺伝子は全例同一であった。前庭部において *babA2* 陽性例では炎症細胞浸潤が有意に高度であった。血清学的には同群で PG II が高値であり、強い炎症の存在を裏付けた。東アジア型 *cagA* EPIYA モチーフ近傍に多型を認めたが、組織学的胃炎との関連はみられなかった。

【結論】*H. pylori* BabA は、組織学的胃炎の形成に重要な役割をもつ。

2. Identification and quantitative determination of 5-methoxy-*N*, *N*-di-*n*-propyltryptamine in urine by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry

(重水素ラベル化内部標準物質を用いたガスクロマトグラフィー-マスマスベクトロメトリー法による尿中5-メトキシ-*N*, *N*-ジ-ノルマルプロピルトリプタミンの同定と定量)

中本 晃弘

展開医科学専攻病態情報医科学講座（法医学）

トリプタミン系新規違法薬物の同定・定量法の開発について検討し、初めて5-methoxy-*N*, *N*-di-*n*-propyltryptamine (5-MeO-DPT) の中毒事例を発見した。

同定・定量法は、尿0.5 ml に IS (0.1 mg/ml) 5  $\mu$ l, 緩衝液 (pH 11.0) 1.0 ml を加え混合する。珪藻土カラムを用いて抽出し、アシル化した後に GC-MS で分析する。

尿中5-MeO-DPT 濃度1  $\mu$ g/ml での回収率は90.7%, 検出下限は0.005  $\mu$ g/ml, 0.01-2.0  $\mu$ g/ml の範囲で直線性が得られた(相関係数:0.999)。尿中濃度0.1, 1.0  $\mu$ g/ml での日内及び日間変動は3.1~5.8%であり、再現性にも優れていた。中毒事例の尿中5-MeO-DPT 濃度は0.37  $\mu$ g/ml であったが、初めての事例であり、意義付けは困難であった。今後、本法が普及し、中毒事故の解析に貢献すると期待される。

3. Evaluation of the basic properties of the BANGkit™ gel dosimeter  
 (BANGkit™ ゲル線量計の基礎特性的評価)

村上 祐司

展開医科学専攻病態情報医科学講座（放射線医学）

放射線治療の3次元化に伴い、線量分布の3次元検証法の確立が望まれる。その1手法である BANGkit ゲル線量計の基礎的特性を検討した。検討項目は、ア

スコルビン酸・硫酸銅濃度と線量応答、線量応答の再現性、照射後の安定性、照射時の温度の影響、線量率の影響とした。結果、任意の線量域 (0 - 40 Gy) での線量応答曲線の良好な線形性をもつゲルが作成可能であった。アスコルビン酸・硫酸銅濃度比率は触媒反応に影響を与える可能性があり、この因子についてさらなる研究が必要である。良好な線形性を示した AC1-5 ゲルの検討では、線量応答 (線形性) の再現性および照射後の安定性を確認した。照射時のゲルの温度と線量率は線量応答に影響を与えた。本システムは、臨床にて使用可能と考えるが、測定過程における恒常的な温度管理が必須であり、高線量域における線形性および線量率依存性については今後の改善が必要である。

#### 4. Differential expression of the glycosylated forms of MUC1 during lung development (発生段階の肺における MUC1 発現及びその糖鎖修飾の差異についての検討)

櫻井 穰司

展開医科学専攻病態制御医科学講座 (分子内科学)

MUC1 は胎児気道の形成や細胞分化に関与しているとされる。しかしながら、肺胞腔形成前の胎児気道における MUC1 の発現を免疫組織学的に検討した研究は、過去に行われていない。そこで我々は胎児・新生児肺 (妊娠 13 - 41 週齢) 35 例、成人肺 4 例に対し、糖鎖の多い MUC1、糖鎖の少ない MUC1 及び MUC1 シアル化糖鎖 (KL-6) を認識する 3 つの抗 MUC1 モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行った。その結果 MUC1 は妊娠 13 週齢から恒常的に胎児・新生児の末梢気道管腔側に発現し、糖鎖修飾により発現部位が異なることがわかった。MUC1 シアル化糖鎖及び糖鎖の多い MUC1 は、全週齢を通して末梢気道管腔側全体に発現していたが糖鎖の少ない MUC1 は末梢気道の先端部及び肺胞腔のみで発現を認めた。我々は MUC1 が末梢気道発生に関与している可能性を示唆し、糖鎖修飾の差異で MUC1 の機能が異なる可能性を示した。

#### 5. Accumulation of magnetically labeled rat mesenchymal stem cells using an external magnetic force, and their potential for bone regeneration

(磁性体ラベルした骨髄間葉系幹細胞の外磁場による細胞集積能と骨分化誘導能の検討)

杉岡 敏博

展開医科学専攻病態制御医科学講座 (整形外科)

新しい磁気ターゲティングシステムによる骨髄間葉系幹細胞 (MSC) の集積及び骨分化誘導の可能性を実験的に検討した。

ラット骨髄から MSC を分離し、磁性体ビーズと抗ラット CD44 抗体を結合させ、免疫磁性体ビーズ (IMB) を作成した後、IMB と MSC とを結合させ選択採取した。Dish の底面中央に磁石を設置したものを実験群、設置しないものを対照群とし、選択採取した MSC を滴下、至適培地にて培養し外磁場による MSC の集積効果及び骨分化への影響を①単位面積あたりの細胞数比較、② alizarin red 染色、③ osteocalcin 他の RT-PCR を行い検討した。結果は、①実験群に優位に細胞が集積、②4 週目に実験群のみで強い染色性を認め、③実験群のみ 7 日目から発現を認めた。本システムで MSC を効率よく任意の部位に集積させ、且つ骨分化誘導を促進させることが可能と考えられ新しい骨修復の方法となりうる可能性が示唆された。

#### 6. The endogenous danger signal uric acid augments contact hypersensitivity responses in mice

(内在性 Danger シグナルである尿酸結晶は接触過敏症反応を増強する)

劉 蘭蘭

創生医科学専攻探索医科学講座 (免疫学)

【目的】 組織障害により生ずる Danger シグナルがアレルギー性皮膚炎の悪化要因になる可能性を考え、接触過敏症マウスモデルを用い、内在性 Danger シグナル分子である尿酸結晶 MSU が皮膚の免疫反応を増強する可能性を検討した。

【方法】 接触過敏症マウスモデル (CHS) : マウス属はヒトと異なり尿酸分解酵素を持つため、その阻害剤 (K-Oxonate) を摂取後に用いた。腹部皮下に TNCB と MSU を投与し、6 日後に TNCB を耳に塗布、耳の厚みの変化を経時的に測定した。耳の組織の炎症状態を病理学的に観察した。

感作後の免疫担当細胞の変化 : 経時的に所属リンパ節より細胞を調整、細胞表面マーカーを指標とし免疫担当細胞の量的・質的变化を FACS で解析した。

【結果】 樹状細胞 DC の活性化マーカー CD86 および CD40 の発現が MSU 投与群で上昇していた。T

細胞の活性化マーカー CD69 および CD44 陽性細胞も割合も増加していた。以上の結果から MSU は皮膚の DC の活性化を促進することで、所属リンパ節の T 細胞の活性化を増強し、CHS 反応を強める作用があることが示唆された。

## 7. The role of the synovium in repairing cartilage defects (滑膜の軟骨欠損修復に対する役割)

宮本 礼人  
展開医科学専攻病態制御医科学講座 (整形外科学)

【目的】SD 系ラット及び GFP ラットの滑膜を用い、軟骨欠損に対する滑膜の役割について検討を行うこと。

【方法】実験 1 では SD 系ラットの膝に軟骨全層欠損を作製した群 (滑膜残存群) と軟骨欠損作成後、連続する滑膜を切除した群 (滑膜切除群) を作製した。実験 2 では 8 週齢 SD 系ラットの膝に軟骨欠損、滑膜切除作製後、同部位の GFP ラットの滑膜を移植した群 (滑膜移植群) と、移植しない群 (滑膜切除群) を作製した。組織学的評価、GFP 陽性細胞の観察及び、RT-PCR 法を用いたアグリカン、2 型コラーゲン mRNA の発現の観察を行った。

【結果】実験 1 では滑膜残存群に軟骨様組織の再生を認めた。実験 2 では滑膜移植群で軟骨欠損部に GFP 陽性の細胞が観察され、滑膜移植群の軟骨欠損部の組織にアグリカン、2 型コラーゲン mRNA の発現を認めた。

【結論】滑膜は軟骨欠損に進入し、軟骨化生を促進する可能性が示唆された。

## 8. Acute Moderate-intensity Exercise Induces Vasodilation through an Increase in Nitric Oxide Bioavailability in Humans

(急性の中強度有酸素運動は NO の生物学的活性を増加させることにより血管拡張反応を増強する一運動強度と血管機能の関連一)

後藤 力  
創生医科学専攻探索医科学講座 (心臓血管生理医学)

【背景】長期間の中強度有酸素運動は血管内皮機能を改善するが、かかる長期運動は日常の急性運動の繰り返しである。

【目的】本研究は異なる強度が急性運動時における

血管機能を含む血行動態および酸化ストレスに与える影響について検討することを目的とした。

【方法】対象は若年健常男性 8 名とした。測定は低強度 (25% $\dot{V}o_{2max}$ )、中強度 (50% $\dot{V}o_{2max}$ )、高強度 (75% $\dot{V}o_{2max}$ ) の運動強度にて実施した。

【結果】中強度の運動において前腕血流量 (FBF)、平均血圧、心拍数、前腕末梢抵抗 (FVR) は有意な変化を認め、内皮型 NO 合成酵素阻害剤 N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) 投与により得られた FVR の低下が消失した。血中イソプロスタノール濃度およびノルエピネフリン濃度は高強度運動において有意な増加を認めた。

【考察】急性運動においても血管機能に対する中強度の運動の有用性が確認された。

## 9. Platelet-rich plasma accelerated surgical angiogenesis in vascular-implanted necrotic bone an experimental study in rabbits

(ウサギ壊死骨内血管束挿入モデルにおける多血小板血漿の血管新生促進効果の実験的検討)

横田 和典  
展開医科学専攻病態制御医科学講座 (整形外科学)

【目的】本研究は骨壊死内動静脈血管束挿入モデルにおいて PRP 添加により、壊死骨内血管新生が促進するか否かを検討することを目的とした。

【方法】雄日本白色家兎 24 羽を使用した。末梢血 10 ml を採取し 2 回の遠心分離により多血小板血漿を作成した。採取した腸骨を液体窒素に浸し壊死骨とした後、径 2 mm の孔を穿ちその中に伏在動静脈血管束を挿入し、血管束周囲に PRP を添加して皮下に埋没した (実験群)。生理食塩水を添加したモデル (対照群) と比較し両群における血管新生を術後 1 週、2 週で検討した。血管新生の評価はラテックス造影剤により血管造影の後、スパルトホルツ法にて組織を透明化し等拡大組織写真を比較した。

【結果】新生血管は長さ、密度ともに 1 週、2 週のいずれでも実験群は対照群に比べ有意に増加していた。

【結論】ウサギ壊死骨の動静脈挿入モデルにおいて PRP は血管新生を促進する効果が示された。

## 10. Submucous turbinectomy combined with posterior nasal neurectomy in the management of severe allergic rhinitis: Clinical outcomes and local cytokine changes

(重症アレルギー性鼻炎に対する後鼻神経焼灼術を併用した粘膜下鼻甲介骨切除術：臨床効果と局所サイトカインについて)

小川 知幸

展開医科学専攻病態制御医科学講座  
(耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学)

23名の重症アレルギー性鼻炎患者に粘膜下鼻甲介骨切除術及び後鼻神経焼灼術を行い、術前及び術後36ヶ月までの自覚症状を評価した。局所サイトカインの変化を術前及び術後6ヶ月の鼻洗浄液中の IL-5, eotaxin, RANTES 濃度を測定し検討した。また下鼻甲介粘膜炎を採取し、組織学的に検討した。

臨床効果は、くしゃみ、鼻汁、鼻閉、重症度のすべてにおいて症状スコアの平均値は術後有意に減少し、その効果は術後36ヶ月においても持続していた。鼻洗浄液中の IL-5 及び eotaxin は術後に有意に減少したが、RANTES は変化なかった。組織学的には、術後の下鼻甲介粘膜炎は粘膜固有層の炎症細胞は著明に減少し、間質は膠原繊維により置換されていた。

以上より、本手術は重症アレルギー性鼻炎患者の臨床症状を長期にわたり著明に改善させ、臨床効果は鼻粘膜局所の炎症細胞浸潤とサイトカインの減少とに関連することが証明された。

#### 11. Mitochondrial DNA mutations in digestive tract tumors

(消化管腫瘍におけるミトコンドリア DNA 変異に関する研究)

#### 1. Somatic mutations of mitochondrial DNA in digestive tract cancers

(消化管癌におけるミトコンドリア DNA 変異)

#### 2. Nuclear and mitochondrial DNA microsatellite instability in gastrointestinal stromal tumors

(消化管間葉系腫瘍における核およびミトコンドリア DNA マイクロサテライト不安定性)

小瀬 和洋

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)

消化管癌(食道癌・胃癌・大腸癌)および消化管間葉系腫瘍(GIST)におけるミトコンドリア DNA (mtDNA) 変異の関与について検討した。GIST については核 DNA マイクロサテライト不安定性(nMSI)についても検討した。mtDNA 変異は D310 領域、核 DNA マイクロサテライト不安定性は BAT26 領域を、それぞれマイクロサテライトアッセイを用いて評価した。消化管癌すべてにおける D310 領域の変異は、12% (32/278) に認められ、その内訳は、食道癌 14% (7/51)、胃癌 15% (14/94)、大腸癌 8% (11/133) であった。いずれも臨床病理学的事項との間に有意な関係は認められなかった。GIST における、D310 領域の mtDNA 変異と nMSI は、それぞれ 16% (10/62) と 5% (3/62) に認められた。mtDNA 変異および nMSI と臨床病理学的事項との間に有意な関係は認めなかった。mtDNA 変異と nMSI との間に有意な関係は認めなかった。mtDNA 変異は腫瘍発生に関与している可能性が示唆された。