

第515回 広島大学医学集談会：No.1

第26回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成20年11月6日）

1. Role of vascular endothelial growth factor-C and -D mRNA in breast cancer

（乳癌における VEGF-C と VEGF-D の果たす役割について）

寺本 成一

医学系研究科博士課程外科系専攻
（外科学）

VEGF-C, VEGF-D は, VEGF Receptor-3 との結合が強くリンパ管形成の作用が強いとされる。悪性腫瘍内の VEGF-C と VEGF-D に関する研究報告がなされているが, 乳癌における臨床的意義は不明な点が多い。国立病院機構呉医療センターで手術した109例の乳癌組織を対象に VEGF-C と VEGF-D の mRNA の発現を real time monitoring polymerase chain reaction 法により測定し, 臨床病理学的諸因子との関連について検討した。

【結果】1) 非浸潤癌 (6例) と浸潤癌 (103例) における両因子の発現は, 有意差はなかった。2) 浸潤癌における両因子の発現は, HER-2 陽性例 (36例) では陰性例 (67例) と比べて有意に発現が高かった。リンパ管侵襲, リンパ節転移の有無における両者の発現には有意差はなかった。しかしリンパ節転移陰性症例 (56例) においてリンパ管侵襲陽性例 (15例) はリンパ管侵襲陰性例 (41例) と比較して両因子の発現は有意に高かった。

【まとめ】乳癌において VEGF-C, VEGF-D はリンパ節転移を起こす前の早期段階のリンパ管侵襲に関与していると考えられた。

2. The persistent elimination of B cells responding to blood group A carbohydrates by synthetic group A carbohydrates and B-1 cell differentiation blockade: novel concept in preventing antibody-mediated rejection in ABO-incompatible transplantation.

（合成糖鎖と B-1 細胞分化抑制剤を用いた恒久的かつ特異的な血液型糖鎖抗原反応性 B 細胞の除去：

血液型不適合移植における抗体性拒絶反応回避のための新たなコンセプト）

伊禮 俊充

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（外科学）

血液型不適合移植の安全な遂行のため, 血液型糖鎖抗原認識 B 細胞の分化の解明とその恒久的制御法の確立が必要である。本論文では, 血液型糖鎖抗原認識 B 細胞が, 主に腹腔内に局在する IgM^{high}CD5⁺B-1 細胞に属し, 脾臓に動員され抗体産生細胞になることを示した。さらに T 細胞非依存性の B-1 細胞への分化は, カルシニューリン阻害剤により完全に抑制されることを示した。また, B 細胞が抗原特異的レセプターを持つことを利用し, 合成血液型 A 型糖鎖, タンパク化合物 (A-BSA), 抗 BSA 抗体を使用することにより抗 A 抗体産生細胞を特異的に排除しえた。同時に B-1 細胞への分化を抑制するカルシニューリン阻害剤を継続投与することにより, *in vivo* で抗 A 抗体産生を恒久的に抑制可能なことを示した。以上のごとく, 本論文では, 血液型糖鎖抗原を認識する B 細胞の分化の解明とその恒久的制御法をマウスモデルを用い示した。

3. Self-administered assessments of perceived stress and quality of life and their associations in community-based and hospital-based surveys

（地域および病院調査における自覚ストレスおよび生活の質 (QOL) の自記式評価とそれらの関連）

木村 友昭

展開医科学専攻病態情報医科学講座
（公衆衛生学）

住民や患者の健康状態の評価は, 医科学的な検査だけでなく, 主観的な健康感も重要である。本研究では, 自覚ストレスと生活の質 (QOL) との関連を調べるため, 地域住民を対象にした調査 (研究 1) と, 医療

機関における喘息患者を対象にした調査（研究2）を行った。

研究1において、自覚ストレス（JPSS）と包括的QOL（SF-8）の精神的健康度（MCS）との間に強い相関が見られた。男性においては、自覚ストレスと身体的健康度（PCS）との間にも有意な関連が見られた。

研究2において、疾患特異的QOL（AQ20）は、呼吸器機能や免疫機能の検査結果とほとんど関連せず、アレルギー鼻炎や食品アレルギーの合併と弱い関連が見られた。AQ20は、自覚ストレスと中程度の関連があり、喘息重症度と弱い関連が見られた。

両研究から、自覚ストレスの管理は、精神状態だけでなく、身体的疾患やQOLの改善につながる可能性が示唆された。

4. Different role of macrophages and vascular smooth muscle cells in atherosclerotic lesions of Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit between aorta and coronary artery (WHHL ウサギの大動脈と冠動脈の動脈硬化病変におけるマクロファージと血管平滑筋細胞の異なる役割について)

大谷 晴美
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)

【目的】動脈硬化病変の形成過程における病理組織学的差異について検討を行う。

【材料と方法】WHHL ウサギの大動脈と冠動脈の動脈硬化病変を用い、血管平滑筋細胞、マクロファージ、コラーゲンI型、III型、IV型、V型、VI型の免疫染色を行った。また、細胞増殖因子やアポトーシスとの関連も検討した。

【結果】冠動脈では初期に血管平滑筋細胞の増殖とコラーゲン線維の蓄積が優勢で、マクロファージの関与は少なかった。進行期では、アポトーシスにより血管平滑筋細胞は減少するがコラーゲン線維は維持されていた。大動脈では初期よりマクロファージの増殖が優勢で、血管平滑筋細胞は一定であった。進行期ではアポトーシスによって細胞数は減少するが、コラーゲン線維や細胞外脂質沈着は徐々に増加していた。

【結論】冠動脈と大動脈では、粥状動脈硬化病変の発生過程において血管平滑筋細胞とマクロファージの役割の違いが異なることが示唆された。

5. Possible involvement of regulatory T cells in tumor onset and progression in primary breast cancer (原発性乳癌の発生と進展における制御性 T 細胞の関与)

大原 正裕
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(外科学)

【目的】乳癌局所における制御性 T 細胞の乳癌の発生と進展における臨床病理学的意義について解析した。

【対象と方法】乳癌136症例を対象に、制御性 T 細胞関連因子である FOXP3, IL-10, TGF β 1, CCL22 の mRNA の発現を定量的に解析し、臨床病理学的諸因子との関連について解析した。

【結果】乳腺正常部と比較し、FOXP3 および IL-10 mRNA は DCIS の時点ですでに発現が高く、腫瘍が増大しても継続して高発現であった。これらの発現は予後不良因子である PgR 陰性、HER2 陽性の症例において高発現であった。TGF β 1 と CCL22 mRNA も、乳腺正常部と比較して DCIS の時点ですでに発現が高く、腫瘍が増大しても継続して高発現であった。

【結語】制御性 T 細胞は臨床病理学的予後不良乳癌における進展の初期段階から関与する可能性が示唆された。

6. White blood cell count, especially neutrophil count, as a predictor of hypertension in a Japanese population (日本人集団において白血球数、特に好中球数は高血圧予測因子となる)

立川 佳美
展開医科学専攻病態制御医科学講座
(分子内科学)

【背景】白血球数や C 反応性蛋白などの炎症性指標の増加と高血圧発症との間に正の関連があることは報告されているが、日本人では明らかでなく、またどの白血球分画が高血圧発症と関連するのかわかられていない。

【目的】白血球数及びその分画が高血圧の発症を予測するかどうかを検証すること。

【方法】観察開始時（1965-67年）に高血圧の既往が

なく、正常範囲内の白血球数を有していた9,383名を2004年まで追跡し、Cox 比例ハザードモデルを用い検討した。

【結果】女性では白血球数高値は有意な高血圧発症の危険因子であったが、男性では白血球数を時間依存性変動で調整した解析でのみ高血圧発症との間に有意な関連を認めた。白血球分画の検討では、女性で好中球数は有意に高血圧発症と関連していた。

【結論】白血球、特に好中球増加は高血圧発症リスクの増加と関連しており、高血圧発症に炎症が関与していることが示唆された。

7. Decreased orotate phosphoribosyltransferase activity produces 5-fluorouracil resistance in a human gastric cancer cell line (OPRT 活性の減弱によりヒト胃癌細胞株において5-fluorouracil の耐性が引き起こされる)

津谷 康大
創生医科学専攻放射線ゲノム医学講座
(腫瘍外科研究分野)

【目的】5-FU の獲得耐性メカニズムを検討する。

【方法】胃癌細胞株 MKN45 を5-FU 0.1 μ M の低濃度から持続培養し、徐々に濃度を上昇し、2.0 μ M でも増殖を示す5-FU 耐性株 MKN45/F2R を樹立した。耐性株における5-FU 代謝酵素 (TS, DPD, OPRT) 発現を検討した。

【結果】MKN45/F2R は親株と比較し、5-FU に対し157倍の耐性を示した。同時にタキサン系抗癌剤への交差耐性を示した。耐性株においてはTS, DPD のタンパク発現、酵素活性に変化は認められなかったが、OPRT の mRNA, タンパク発現、酵素活性の低下を認めた。親株の OPRT を siRNA を使用し knock down することにより5-FU の耐性が誘導された。

【考察】OPRT の発現低下が5-FU の耐性獲得に関与していると考えられた。

8. Female perineal membrane: a study using pelvic floor semiserial sections from elderly nulliparous and multiparous women (女性会陰膜：未産婦および経産婦高齢女性骨盤底の準連続組織切片を用いた解剖学的研究)

加藤 昌生
創生医科学専攻先進医療開発科学講座

【目的】高齢女性の会陰膜の構造を組織学に明らかにすることを目的とした。

【方法】高齢女性の通常固定解剖体15体を対象とした。会陰部組織から冠状断と水平断の準連続組織切片を作製し、顕微鏡下に観察した。

【結果】会陰膜の線維は弾性線維であり、腹側から背側へと進むにつれて水平方向から矢状方向に走行が変化していた。尿道圧迫筋と尿道膈括約筋は組織学的に区別が困難で、会陰膜の線維の中を、線維方向と交叉するように腹側から背側方向に走行していた。会陰膜を構成する弾性線維数と厚さには個体差が存在したが、未産婦群と経産婦群の間で差はなかった。

【考察】会陰膜は弾性線維と尿道圧迫筋-尿道膈括約筋複合体とが網目状に絡み合ったメッシュ様構造物であり、弾性線維と横紋筋との協調作用により腹圧を緩衝させ尿禁制機構に関与することが推察された。

【結語】高齢女性の会陰膜の構造を組織学に明らかにし、会陰膜の新たな概念図を提唱した。

9. Establishment of new diagnostic system of antral gastritis by magnifying gastroendoscopy. (拡大内視鏡による新しい組織学的前庭部胃炎診断法の確立)

- 1) Magnifying gastroendoscopy for diagnosis of histologic gastritis in the gastric antrum (拡大内視鏡による胃前庭部組織学的胃炎診断)
- 2) Surface structure of antral gastric mucosa represents the status of histologic gastritis: Fundamental evidence for the evaluation of antral gastritis by magnifying endoscopy (胃前庭部粘膜の表層構造は、組織的な胃炎の状態を表す：拡大内視鏡による前庭部胃炎評価の基礎的検討)

金 宣眞
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)

【検討】①組織学的胃炎と拡大観察所見の関連、②胃組織生検標本の表層構造と組織学的胃炎の関係

【対象と方法】①拡大内視鏡観察施行した176例について前庭部拡大観察を施行し、同時に組織学的胃炎を評価した。②胃前庭部生検施行された1,018例を対象とし、HE染色標本での表面構造を分類し、組織学

的胃炎スコア，拡大内視鏡所見と対比した。

【結果】①拡大観察所見における分類法を提唱し，従来の胃炎診断より優れた胃炎診断法となりうることを示した。② HE 染色標本における表面構造は拡大内視鏡所見を反映し，組織学的胃炎とも有意に関連していた。

【結語】上部拡大内視鏡観察は非浸襲的に組織学的胃炎の診断に有用な方法となりえる。

10. The anterior branch of the left inferior phrenic artery arising from the right inferior phrenic artery: an angiographic and CT study
(右下横隔動脈から分岐する左下横隔動脈前枝について：血管造影と CT 検査から)

稗田 雅司
展開医科学専攻病態情報医科学講座
(放射線医学)

【背景】肝癌に対する経カテーテル動注化学療法，動脈栓術 (TACE) 等 Interventional radiology (IVR) に際して解剖学的知識は重要である。今回画像所見に基づいて右下横隔動脈から分岐する左下横隔動脈前枝について臨床解剖学的検討を行った。

【対象】2004年1月～2006年12月に上腹部血管造影を施行した1,580例中，右下横隔動脈造影を施行した140例。

【結果】14.3%で右下横隔動脈から分岐する左下横隔動脈前枝が認められ，うち右下横隔動脈後枝よりも中枢寄りから分岐するものが45%，末梢寄りから分岐するものが55%であった。E-C junction 腹側を走行し，左横隔膜に分布していた。

【考察】左下横隔動脈前枝は肝癌に対する肝外栄養血管や E-C junction 付近の消化管出血の出血源となり得る血管であり，肝癌に対する TACE や消化管出血に対する動脈塞栓術 (TAE) 等の IVR を行う際，合併症の回避，被ばく量の軽減，効果的な治療のためにはこのような解剖学的知識は重要である。

11. Biochemical analysis of human PIF1 helicase and functions of its N-terminal domain
(ヒト PIF1 ヘリカーゼの機能とその N-末端ドメインの生化学的解析)

Yongqing Gu (顧 永清)
創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座

(分子発がん制御研究分野)

The evolutionary conserved PIF1 DNA helicase family appears to have largely non-overlapping cellular functions. To better understand the functions of human PIF1, we investigated biochemical properties of this protein. Analysis of single-stranded (ss) DNA-dependent ATPase activity revealed non structural ss DNA to greatly stimulate ATPase activity due to a high affinity for PIF1, even though PIF1 preferentially unwinds forked substrates. This suggests that PIF1 needs a ss DNA region for loading and a forked structure for translocation entrance into a double strand region. Deletion analysis demonstrated novel functions of a unique N-terminal portion, named the PIF1 N-terminal (PINT) domain. When the PINT domain was truncated, apparent affinity for ss DNA and unwinding activity were much reduced, even though the maximum velocity of ATPase activity and K_m value for ATP were not affected. We suggest that the PINT domain contributes to enhancing the interaction with ss DNA through intrinsic binding activity. In addition, we found DNA strand-annealing activity, also residing in the PINT domain. Notably, the unwinding and annealing activities were inhibited by replication protein A. These results suggest that the functions of PIF1 might be restricted with particular situations and DNA structures.

12. Analysis of flow patterns in ventricular assist device — A comparative study of particle image velocimetry and computational fluid dynamics —
(補助人工心臓の内部流場の解析 — 粒子画像流速測定法 (PIV: Particle Image Velocimetry 法) と数値流体力学法 (CFD: Computational Fluid Dynamics 法) の比較—)

佐藤 克敏
展開医科学専攻病態制御医科学講座
(外科学)

【背景】我々は空気駆動式人工心臓を開発してきた。ポンプ内の血栓形成や溶血防止のため内部流場の整流が重要である。これまでポンプ形態を変化させ、

PIV 法で流場を解析してきた。今回新たな整流手段としてポンプ内部に突起を付ける事を考案した。また、CFD 法を導入し、PIV 法と合わせた解析法を確立した。

【目的】両方法で突起の整流効果を検討し、我々の解析法の有用性を検証した。

【方法】ポンプは広大型標準タイプのハウジングとダイアフラムに突起を付け、その位置で、N タイプ：突起なし、D タイプ：ダイアフラム、H タイプ：ハウジング、DH タイプ：両方あり の4タイプとした。これらの内部流場を CFD 法と PIV 法で解析した。

【結果】両方法で一致した結果を得る事ができた。突起は、流場を中央へ整流し周辺のよどみを解消する事が示唆され、特にハウジングの突起が有効であった。

【考察】我々の解析方法は有用であり、突起の整流効果が証明された。

13. Ectopic cyclin D1 overexpression increases chemosensitivity but not cell proliferation in multiple myeloma

(多発性骨髄腫細胞に cyclin D1 を過剰発現させると細胞増殖能は変わることなく抗腫瘍薬剤感受性が増加する)

黒田 芳明
創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座
(血液内科研究分野)

近年多発性骨髄腫 (MM) において Cyclin D1 (D1) を高発現するものは予後良好とされている。そこで我々は MM 細胞株に D1 を過剰発現させ、細胞学的性質を検討した。

レトロウイルスベクターを用い MM 細胞株 RPMI8226 に D1 を transfection 後、D1 発現クローン (S9-3)、親株、Vector との比較を行った。S9-3 は細胞増殖能での差は見られなかったが、S 期の細胞の増加と G2/M 期の細胞の減少を認め、Rb 蛋白のリン酸化、p27 蛋白・D2 の発現抑制を認めた。MM に対する抗腫瘍薬により S9-3 は早期にアポトーシスに導かれた。MM 患者では D1 高発現群で D2 が抑制されたが、D1 発現と化学療法の治療効果に相関は認められなかった。

本実験では1つのモデルであるが D1 過剰発現は細胞増殖の増加なく S 期を延長させ、抗腫瘍薬への感受性を高め、予後良好因子となりうる原因の一つと考えられた。