

第519回 広島大学医学集談会：発表なし

第30回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成 21 年 8 月 6 日）

1. Telomere biology in neuroblastoma : telomere binding proteins and alternative lengthening of telomeres

（神経芽腫のテロメアバイオロジー：テロメア結合蛋白とテロメア非依存症テロメア維持機構）

鬼武 美幸

展開医科学専攻病態制御医学講座
（外科学）

神経芽腫のテロメア維持機構として従来からのテロメラーゼ活性 (TA) の他に, テロメア結合蛋白 (TBP) と Alternative lengthening telomere (ALT) について検討した。121 例を対象に, テロメラーゼ活性, テロメア長 (TL), TBP (*TRF1*, *TRF2*, *TIN2*, *TANK1*, *TANK2*, *RAP1*, *POT1*) 発現レベルを測定し, 臨床因子との相関を検討した。生存率は高 TA 群と, 高 TA 群を除くテロメア延長例 (ALT) で不良であり, ALT 群は化学療法抵抗性であった。TBP の発現は, 高 TA 群では短縮した群での *Rap1* を除き TA に関係なく抑制され, 低 TA 群では ALT で抑制されていた。ALT では増殖能が遅いために化学療法抵抗性であると考えられ, ALT と TBP は神経芽腫の化学療法適応の指標となり得ると考えられた。

2. Effects of propofol on calcium homeostasis in human skeletal muscle

（プロポフォールのヒト骨格筋のカルシウム動態への影響）

右田 貴子

展開医科学専攻病態制御医学講座
（麻酔蘇生学）

悪性高熱症 (MH) は揮発性吸入麻酔薬等で誘発される致命的合併症で, 病因は骨格筋細胞内のカルシウム調節チャネル (リアノジン受容体) の異常である。静脈麻酔薬プロポフォールはヒト骨格筋細胞でのカルシウム動態への影響が明らかではない。本研究では

MH 素因者のスキンドファイバーと培養骨格筋細胞を用い, プロポフォールの影響について検討した。対象は亢進群を CICR 速度が亢進していた MH 素因者 10 名, 非亢進群を 10 名とした。スキンドファイバーでは, 筋小胞体 (SR) からの Ca^{2+} 放出速度は $10 \mu M$ と $100 \mu M$ では影響がなく, $1000 \mu M$ では促進した。SR への Ca^{2+} 取り込みは $100 \mu M$ では影響がなく, $1000 \mu M$ では抑制された。EC50 値は亢進群で $274.7 \pm 33.9 \mu M$, 非亢進群で $543.6 \pm 79.5 \mu M$ と有意差を認めたが, 共に臨床使用濃度の 100 倍以上であった。低濃度では Ca^{2+} の放出にも取り込みにも影響しないため, 臨床使用濃度のプロポフォールは MH の起因薬剤とはなりにくいことが示唆された。

3. Glucocorticoids suppress NF- κ B activation induced by LPS and PGN in paranasal sinus epithelial cells

（Glucocorticoid は LPS, PGN による副鼻腔粘膜上皮細胞における NF- κ B の活性化を抑制する）

西 康行

展開医科学専攻病態制御医学講座
（耳鼻咽喉科・頭頸部外科学）

慢性副鼻腔炎病態の遷延化を生じる機序として, 代表的な炎症性物質である LPS, PGN の刺激による培養ヒト副鼻腔粘膜上皮細胞における NF- κ B の活性化について検討を行った。さらに TLR2, 4 と GR についてその発現, 局在について検討を行った。p50 は, PGN・LPS 刺激より有意にその活性化が上昇し, DEX $10^{-5} M$ の前処置にてその活性化が抑制された。免疫組織学的には培養副鼻腔粘膜上皮細胞に TLR2, TLR4 の発現を認めたが, その発現は弱かった。また DEX の処置により GR の核内への明瞭な移行が確認できた。今回の結果にて LPS, PGN 刺激により NF- κ B を介した炎症性サイトカインを誘導が副鼻腔局所の炎症の増悪を導く可能性が考えられた。また, DEX は転写因子レベルで副鼻腔粘膜上皮における TLR2, TLR4 を介した炎症反応を制御している可

能性が考えられた。

4. Laminin γ 2 mediates Wnt5a-induced invasion of gastric cancer cells
(Wnt5a は laminin γ 2 を介して胃癌細胞の浸潤能を亢進する)

山本 英喜
創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座
(分子細胞情報学研究分野)

Wnt5a は胃癌の進行度・悪性度を進展させる。本研究では Wnt5a が生体内で胃癌の進展に及ぼす影響を動物実験で確認し、Wnt5a による胃癌細胞浸潤能亢進の機序を検討した。

胃癌細胞の実験的肝転移の頻度は Wnt5a の発現抑制によって有意に減少した。DNA マイクロアレイ解析から、胃癌細胞において Wnt5a は細胞外基質蛋白質 laminin-5 の構成因子である laminin γ 2 の発現を促進することを見出した。

Wnt5a は c-Jun-N-terminal kinase や protein kinase C を活性化し、転写因子 JunD を介して laminin γ 2 の転写活性を亢進し発現量を増加させた。Wnt5a の過剰発現による細胞浸潤能の亢進は、laminin γ 2 の発現抑制によって減弱した。ヒト胃癌検体で胃癌細胞の細胞質での Wnt5a と laminin γ 2 の発現は、悪性度の高い diffuse-scattered type で有意に一致した。

以上から、ある種の胃癌において Wnt5a は、laminin γ 2 の発現を介して胃癌細胞の浸潤能を亢進し、遠隔転移を促進して胃癌の悪性度を進展させると考えられる。

5. Lymphocyte transformation test is not helpful for the diagnosis of methotrexate-induced pneumonitis in patients with rheumatoid arthritis
(リンパ球幼若化試験は関節リウマチ患者に生じるメトトレキサート誘発性肺炎の診断に有用ではない)

平田信太郎
展開医科学専攻病態制御医科学講座
(分子内科学)

【目的】RA 患者で、MTX に対する過敏反応、とくに MTX 誘発性肺炎の検知法として、リンパ球幼若化試験 (LTT) が有用であるかを検討する。

【方法】RA40 名 (MTX 継続中 24 例) と健常者 13 名の PBMC を分離し、MTX 添加時の 3H-TdR の取込を計測、非添加時での取込に対する比を算出し Stimulatory Index (SI) とした。対照法として MTS 法を用いた。RA の疾患活動性は DAS28 で評価した。

【結果】まず MTX 存在下では 3H-TdR の取込量が増加し SI も高値となるが、MTS 法での変化と相関せず、細胞増殖に起因しないと考えた。次に、3H-TdR 取込は MTX 服用者では無刺激で増加、このため SI は相対的に低い値を示し、細胞内での残存 MTX の影響と考えた。一方 DAS28 との相関は見られなかった。最後に MTX 誘発性肺炎の既往 5 例とその他 11 例では SI 値に有意差はなかった。

【結論】LTT は MTX に対する過敏反応を検知する手段として不適當であり、また MTX 誘発性肺炎の診断方法として有用でない。

6. Association between central systolic blood pressure, white matter lesions in cerebral MRI and carotid atherosclerosis
(中心収縮期血圧と MRI 上の大脳白質病変ならびに頸動脈硬化との関連)

Isha Shrestha (イシャ シュレスタ)
創生医科学専攻病態探求医科学講座
(脳神経内科学)

【目的】大脳白質の MRI/FLAIR 高信号域 (white matter hyperintensities; WMHs) は、その病態に血管障害が関与することが示唆されている。本研究では中心動脈圧 (cSBP) と WMHs の関連について検討した。

【方法】179 例について、脈波解析装置を用いて上腕血圧、ならびに cSBP を測定した。WMHs に関しては Fazekas 分類に基づいて脳室周辺 (PVH)、深部白質 (DWMH) を評価した。頸動脈エコーにより内膜中膜肥厚 (IMT)、プラークスコア (PS) を計測した。

【結果】WMHs は年齢、上腕血圧、cSBP と相関を認めた。上腕血圧に比して cSBP は WMHs のより早期に有意に高値であった。多変量解析においては cSBP、年齢、PS が独立した因子として WMHs との相関がみられた。

【結論】cSBP は白質病変のリスク評価の点で上腕血圧より優れた指標であると考えられた。

7. Identification of Nectin-4 oncoprotein as a diagnostic and therapeutic target for lung cancer (Nectin-4 は肺癌の新規血清学的・組織学的診断マーカー, 治療標的分子である。)

高野 淳
展開医科学専攻病態制御医学講座
(分子内科学)

cDNA マイクロアレイ発現プロファイルより, 非小細胞肺癌で高頻度に発現上昇し正常組織で発現の低い Nectin-4 を解析した。臨床検体, 肺癌細胞株の RT-PCR で Nectin-4 の発現上昇を認めた。FACS, 免疫細胞染色にて肺癌細胞表面に Nectin-4 を確認した。非小細胞肺癌の組織アレイで Nectin-4 強陽性症例は, 弱陽性, 陰性症例と比べ予後不良で, 多変量解析では独立した予後不良因子であった。また肺癌患者血清 Nectin-4 値は, 健常人と比べ有意に高値を示した。Nectin-4 は陽性率 53.7%, 偽陽性率 2.3% で, CEA, シフラの陽性率 (42.7%, 39.0%) より高感度であった。肺癌細胞の Nectin-4 を siRNA で抑制したところ, 増殖抑制され, マウスに Nectin-4 安定発現株を皮下移植したところ, 増殖亢進した。Cos7 細胞に Nectin-4 を発現させたところ, 浸潤能亢進を認めた。

8. Statistical tests based on new composite hypotheses in clinical trials reflecting the relative clinical importance of multiple endpoints quantitatively

(臨床試験における複数のエンドポイントの相対的な医学的重さを定量的に反映した新しい複合仮説の検定)

西川 正子
展開医科学専攻病態情報医学講座
(計量生物研究分野)

臨床比較試験において, エンドポイント (EP) は 1 つに絞ることが薦められている。しかし, 効果を複数の側面から評価しなければならない治療域もあり,

そこではしばしば多重性を調整して複数の EP を検定したり, 複数の EP を合成して 1 つの複合 EP が構成されたりしている。複合 EP の構成にあたり, それぞれの医学的重みをどのように考慮するのかは大変重要で難しい問題であるが, 従来方法では必ずしも適切であるとはいえない評価方法がとられてきた。

本研究では, 比較する治療を新治療および対照治療の 2 つとし, EP は 2 個で, 2 変量正規分布に従う連続変量とする。これらの EP に対してそれぞれの相対的な医学的重さを定量的に反映した新しい複合仮説を提案し, これに関する新しい複合 EP を構成し, それを用いた検定方法を検討する。また, 具体的な数値を用いて本方法の適用例を示す。

9. Effects of structural variations of *APOBEC3A* and *APOBEC3B* genes in chronic hepatitis B virus infection (*APOBEC3A* と *APOBEC3B* 遺伝子の多型が B 型慢性肝炎に及ぼす影響)

阿部 弘美
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)

【背景】*APOBEC3* (A3) は HBV DNA に G to A hypermutation (Hm) を導入し, 抗ウイルス作用も有する。最近 A3B 遺伝子の欠失多型が報告された。

【目的】多型と HBV の持続感染, Hm との関連を解析した。欠失により生じる融合遺伝子の意義を検討した。

【方法】HBV 症例 724 例と健常人 469 例の欠失をアレル特異的プライマー PCR に Invader 法を組み合わせ実施した。Hm は 3D PCR 法により判定した。A3A-A3B 融合遺伝子は RT-PCR により検出した。

【結果】HBV 症例の欠失アレル頻度は 28.1% で健常人と差はなかった。欠失アレルホモの症例で組織学的進行が軽度の例が有意に多かった。欠失とは無関係に HBV 症例からは多数の Hm クローンが得られた。A3A-A3B 融合遺伝子は発現が認められた。A3A には Hm 導入能を認めたが抗ウイルス作用は認めなかった。