

第520回 広島大学医学集談会：発表なし

第31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11月5日）

1. Morphologic effects of epithelial ion channels on the mouse uterus: differences between raloxifene analog (LY117018) and estradiol treatments
（子宮形態に影響を及ぼす上皮性イオンチャネル発現の検討：SERM とエストラジオールの違いより）

信實 孝洋

展開医科学専攻病態制御医科学講座
（産科婦人科学）

【目的】 エストロゲン刺激で発現変化する子宮の上皮性イオンチャネル（ENaC, CFTR）に及ぼす選択的エストロゲン受容体作動薬（SERM）の影響を検討した。

【方法】 卵巣摘出マウスをエストロゲン投与群（E2）、SERM 投与群（LY：ラロキシフェンアナログ）、コントロール群に分け、各薬剤を4-12週間投与して血圧などを測定した。子宮における形態組織所見と、ENaC と CFTR の mRNA 発現量を各群で比較した。

【結果】 血圧や血清電解質濃度に各群で有意差を認めなかった。E2群の子宮内腔液体貯留が著明で、HE染色では内膜腺の過形成を認めた。一方LY群の子宮には内腔液体貯留も内膜過形成も認めなかった。mRNA発現量では、E2群のENaC発現は低くCFTR発現は増加していた。一方LY群ではCFTRの高発現を認めたが、ENaCは変化がなかった。

【結論】 SERMは子宮の上皮性イオンチャネルの発現に対してエストロゲンと異なる作用を示し、子宮に悪影響を及ぼさないことが判明した。

2. Enhanced expression of P2X4 and P2X7 purinergic receptors in the myometrium of pregnant rats in preterm delivery models
（妊娠ラット早産モデルの子宮平滑筋におけるP2X4, P2X7 プリン受容体の発現亢進）

占部 智

展開医科学専攻病態制御医科学講座
（産婦人科学）

【目的】 早産は妊娠中の異常で最も頻度が高く炎症との関連が報告されているが、子宮収縮亢進の機序は解明されていない。そこで子宮収縮制御機構と考えられるP2X プリン受容体（以下P2X）に着目し、早産や炎症との関連を検討した。

【方法】 妊娠ラット子宮平滑筋におけるP2X mRNAの発現をリアルタイムPCR法で定量し、妊娠性変化を検討した。早産モデルとして抗プロゲステロン剤投与によるホルモン誘導性子宮収縮モデル、LPS投与による炎症性子宮収縮モデルでの発現を定量した。

【結果】 P2X4 と P2X7 が妊娠末期に発現が亢進していた。抗プロゲステロン剤投与でP2X4は2.1倍、P2X7は4.1倍と分娩時とほぼ同等の発現亢進を認めた。LPS投与でP2X4が7.4倍、P2X7が18.6倍と著明に発現が亢進していた。

【考察】 炎症によるP2X4, P2X7の発現亢進は、早産における子宮収縮亢進の機序のひとつと考えられた。

3. Wnt14 inhibits death of retinal precursor cells
（Wnt14は網膜未分化細胞死を抑制する）

水上 皆

創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（視覚病態学）

鶏胚網膜のプロテオーム解析により同定されたWnt14についての機能解析を行った。

生後（ED）7, 11, 15日目の鶏胚網膜でWnt14発現をみるためウエスタンブロット解析、免疫組織化学染色を行った。Wnt14をR28細胞（ラット網膜未分化細胞）に強制発現させ細胞死誘導後コロニーフォーメーションアッセイ、免疫細胞化学染色を行った。結合タンパクを検索するため免疫沈降、プロテオーム解析を行った。

Wnt14は網膜神経節細胞に発現し、ED11で減少していた。Wnt14強制発現によりcaspase3活性化によるR28細胞死が抑制された。Interferon induced protein tetratricopeptide3などのWnt14結合タンパクが同定された。

以上より、Wnt14が caspase3 活性化による網膜未分化細胞死を抑制し、鶏胚網膜の発達過程に関与する可能性が示唆された。

4. Assessment of internal thoracic artery patency with transesophageal echocardiography during coronary artery bypass graft surgery (経食道心エコーによる冠動脈バイパス術中の左内胸動脈血流評価)

黒田 真彦
展開医科学専攻病態制御医科学講座
(麻酔蘇生学)

手術中に経食道心エコーで得られる内胸動脈の流速比および流速時間積分値比が、手術後に行う冠動脈造影による内胸動脈の開通性と関連があると考え、両者を比較検討し、経食道心エコーによる評価法の有用性を調べた。ピーク流速比、平均流速比、流速時間積分値比は何れも狭窄群（術後冠動脈造影で内胸動脈が75%以上狭窄）が有意に低値であった。ピーク流速比、平均流速比、流速時間積分値比で内胸動脈の狭窄を検知する感度が100%となる最大値を臨界値とすると、それぞれ0.60, 0.73, 1.06であり、その特異度は92%, 94%, 89%であった。従来、手術中に経食道心エコーで得られた内胸動脈の流速比や流速時間積分値比などで、手術後に行う冠動脈造影による内胸動脈の開通性の予測を数値で示した報告はなかったが、経食道心エコーによる左内胸動脈の血流測定は、手術後のグラフト血管の予後を予測するのに有用である可能性を示唆した。

5. Involvement of epithelial cell transforming sequense-2 oncoantigen in lung and esophageal cancer progression (肺癌・食道癌の進行に関わる癌抗原 ECT2の解析)

平田大三郎
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)

肺癌、食道癌の新規診断法や治療法につながる分子標的候補を探索するために、肺癌、食道癌の cDNA マイクロアレイ発現プロファイルを作製し、癌で高頻度に発現上昇している ECT2に着目し研究を行った。RT-PCR, Western Blot, 免疫染色により癌特異的な ECT2の発現を確認した。次に Tissue Microarray

を作製し、免疫組織学的に検討したところ ECT2 強陽性症例は、弱陽性、陰性症例と比較すると予後が不良であった。siRNA による増殖抑制試験, flow cytometry, 形態学的な観察により、ECT2は癌の増殖、さらに細胞分裂に関与することが証明された。強制発現系では浸潤能の亢進を認めた。このことから ECT2は正常組織では発現を認めず、癌において重要な位置を占める因子であることが証明され、新規の分子標的治療薬候補またはバイオマーカーになり得る可能性が示された。

6. Effects of simulated microgravity on proliferation and chemosensitivity in malignant glioma cells (悪性グリオーマ細胞の増殖と薬剤感受性に対する模擬微小重力の影響)

武田 正明
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
(脳神経外科学)

【目的】悪性神経膠腫は、長期生存困難で予後不良な悪性脳腫瘍である。微小重力環境下では、種々の細胞の増殖、分化が抑制されることが知られているが、腫瘍細胞を用いた研究は少ない。今回、三菱重工業社製 3D-clinostat を用いて、模擬微小重力 (SMG) の悪性神経膠腫細胞に対する影響を検討した。

【方法】3D-clinostat とは、試料を 360°回転させることにより 10⁻³G の SMG 環境を作り出す装置である。3種類の悪性神経膠腫細胞 (D54MG, U251MG, T98G) を、通常条件 (1G) と SMG 条件で培養し、比較検討を行った。さらに、SMG 暴露後の細胞に対するシスプラチン感受性の変化を評価した。

【結果】SMG 下では全ての細胞種において増殖、ミトコンドリア活性の抑制を認めたが、細胞周期には変化がなく、分裂速度の遅延が生じていた。また、SMG 暴露後により、シスプラチンに対する感受性が増大した。

【結論】SMG による抗腫瘍剤に対する感受性変化のメカニズム解明は、悪性神経膠腫の治療、病態制御に結びつく可能性がある。

7. Safety of the inter-nipple line hand position landmark for chest compression (乳頭間線を指標とした胸骨圧迫位置の安全性)

楠 真二

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(麻醉蘇生学)

【目的】 両側乳頭を結ぶ線 (INL : inter-nipple line) を指標とした胸骨圧迫で、救助者の手掌が剣状突起へ逸脱する危険性を検討する。

【方法】 模擬試験として手術患者 1000 名の胸骨体下端から INL までの距離 (dN)、健康成人 100 名の手掌の幅 (H) を計測し、手掌が剣状突起へ逸脱する程度 ($D=H/2-dN$, $D>0$ で逸脱) を算出した。検証試験として救助者が手術患者 100 名の INL を指標に手掌を置き、剣状突起への逸脱距離 (D) を実測した。

【結果】 模擬試験の 55%、検証試験の 51% で D は正の値となった。手掌が剣状突起を超えて上腹部に達する危険性 (オッズ比) は、女性患者 (3.52)、65 歳以上の高齢患者 (2.00)、身長 150 cm 未満の患者 (2.09)、男性救助者 (2.81) で高くなった。

【結論】 INL を指標とした胸骨圧迫では、半数以上の患者で救助者の手掌が剣状突起へ逸脱する危険性がある。

8. Haploinsufficiency and acquired loss of *Bcl11b* and *H2AX* induced blast crisis of chronic myelogenous leukemia in a transgenic mouse model
(遺伝子導入マウスモデルにおいて、ハプロ不全もしくは後天的な *Bcl11b* や *H2AX* の欠損は慢性骨髄性白血病の急性転化を誘導する)

長町安希子
創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座
(がん分子病態研究分野)

慢性骨髄性白血病は、数年の慢性期の後に急性転化に移行する。 $p210^{BCR/ABL}$ の発現に付加的遺伝子異常が協調し急性転化を誘導すると考えられている。今回われわれは、 $p210^{BCR/ABL}$ トランスジェニックマウスと、T 細胞の分化に関与する転写因子 *Bcl11b* (*Rit1/Ctip2*) や、DNA 修復に関与するヒストン *H2AX* 遺伝子のヘテロ欠損マウスをそれぞれ掛け合わせ、両遺伝子の急性転化への関与を検討した。その結果、掛け合わせマウスは早期に急性転化を起こしたことから、*Bcl11b* や *H2AX* のハプロ不全は $p210^{BCR/ABL}$ と協調して CML の急性転化を誘導することが明らかとなった。また、半数のマウスの腫瘍細胞では *Bcl11b* や *H2AX* 遺伝子の両アレルの欠失や mRNA の減弱

が見られた。以上の結果は、分化能抑制や DNA 修復異常が急性転化に関与することを示している。本 CML モデルマウス系は急性転化の分子メカニズム解明に有用である。

9. Usefulness of human telomerase reverse transcriptase in pancreatic juice as a biomarker of pancreatic malignancy
(膵液中テロメラーゼ逆転写酵素を用いた膵腫瘍良悪性診断の有用性)

中島 亨
展開医科学専攻病態制御医科学講座
(外科学)

【目的】 術前膵液細胞診検体における hTERT 発現を免疫組織学的に検討し、術前膵液細胞診への臨床応用の可能性を検証した。

【対象と方法】 膵切除症例で、浸潤性膵管癌、膵管内乳頭粘液性腫瘍、慢性膵炎の計 115 検体を対象とした。細胞診と hTERT 発現による良悪性診断の感度・特異度・正診率をそれぞれ評価した。

【結果】 hTERT 発現による良悪性診断は、感度 85.1%、正診率 84.3% であった。細胞診では、感度 47.1%、正診率 57.4% であった。また、IPMN の borderline lesion 症例における hTERT の発現は、56% で陽性であった。

【考察】 hTERT 発現による術前膵液細胞診の感度・正診率は、細胞診のそれを上回り、腫瘍性膵病変の術前良悪性診断に有用であった。また、borderline 症例における hTERT 発現の評価により high risk 病変の早期発見に寄与する可能性が考えられた。

10. Vascular Endothelial Growth Factor C Stimulates Progression of Human Gastric Cancer via Both Autocrine and Paracrine Mechanisms
(ヒト胃癌における Vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-3) の発現とその意義)

児玉美千世
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)

VEGF-C は重要なリンパ管新生因子であり、そのレセプターの VEGFR-3 はリンパ管内皮に発現している。今回、胃癌細胞における VEGFR-3 の発現と意義について検討した。ヒト胃癌組織では 36 例中 17

例で癌細胞における VEGFR-3 免疫活性を認め、胃癌細胞株 4 株中 2 株で VEGFR-3 mRNA を発現していた。VEGFR-3 高発現株である KKLS 細胞を VEGF-C で処理すると cyclin D1, placental growth factor, autocrine motility factor の mRNA 発現が増加した。KKLS 細胞に VEGF-C 遺伝子を導入し、マウスで同所移植実験を行ったところ、胃壁でのリンパ管新生、血管新生のみならず腫瘍細胞の増殖が促進されることが確認された。以上より VEGF-C はパラクライン的にリンパ管新生、血管新生に働くのみならず、オートクライン的に腫瘍増殖を促進していると考えられた。

11. Usefulness of a ^{13}C -labeled mixed triglyceride breach test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery (膵疾患術後の膵外分泌機能評価における ^{13}C 標識混合中性脂肪を用いた呼気試験の有用性)

中村 浩之
展開医科学専攻病態制御医学講座
(外科学)

【目的】炭素の安定同位体である ^{13}C を標識した混合中性脂肪を用いた呼気試験と便中エラスターゼ -1 検査を比較し、呼気試験の有用性を検討。

【対象と方法】健康者 7 例、慢性膵炎患者 10 例、膵疾患術後患者 95 例を対象。膵消化酵素製剤内服例は 4 日間休業。 ^{13}C 試薬と負荷食を経口摂取し、投与前と投与後 7 時間まで呼気を採取して 7 時間 ^{13}C 累積回収率 (%) を算出。便中エラスターゼ-1 検査は、Enzyme-linked immunosorbent assay を用いて便中濃度 ($\mu\text{g/g}$) を測定。

【結果】 ^{13}C 回収率と便中エラスターゼ-1 濃度は有意に相関。検査時の脂肪負荷や消化酵素製剤内服中止により臨床的脂肪便があったものを膵外分泌機能不全とすると、正診率は、便中エラスターゼ-1 検査 62%、呼気試験 88% (^{13}C 回収率 5% 未満)。

【結論】 ^{13}C 呼気試験は簡便、非侵襲的で、膵外分泌機能検査として有用。

12. Evaluation of portosystemic collaterals by multiplanar reconstruction MDCT imaging for management of esophageal varices. (食道静脈瘤のマネジメントにおける MDCT MPR 像による門脈血行動態の評価の意義)

- 1) Evaluation of patients with esophageal varices after endoscopic injection sclerotherapy using multiplanar reconstruction MDCT images.
(内視鏡的食道静脈瘤硬化療法後の MDCT-MPR 像を用いた門脈血行動態評価)
- 2) Evaluation of portosystemic collaterals by MDCT-MPR imaging for management of hemorrhagic esophageal varices.
(出血性食道静脈瘤における MDCT-MPR 像による門脈血行動態の評価)

児玉 英章
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)

食道静脈瘤内視鏡的治療における MDCT による門脈系再構築画像 (MPR 像) の有用性を検討した。5% EOI 血管内注入による食道静脈瘤硬化療法 (EIS) 前後で MPR 像による静脈瘤の供血路変化を消失群、狭小化群、不変群に分け、静脈瘤再発率を前向きに検討すると、消失群では他群に比し有意に低かった。一方、不変群でも傍食道静脈 (PEV) 発達例では、非発達例に比べ再発率は有意に低かった。次に出血性食道静脈瘤内視鏡的治療後の MPR 像での供血路変化と再出血率について検討した。再出血率は、供血路狭小化例では不変例に比し有意に低値であった。一方、不変群であっても、PEV 発達例は非発達例に比べ、再出血率は低値であった。食道静脈瘤治療前後に、MDCT の MPR 像を用いてこれらの門脈血行動態を評価することは、静脈瘤再発、再出血などの予後予測や治療方針の決定に際し、有用と思われた。

13. Remission of splenic volume in the recipient during the course of adult-to-adult living donor liver transplantation — evaluation using multislice computed tomography and semiautomatic software — (成人生体肝移植前後での脾臓体積の減少 — 多検出器列 CT と半自動ソフトウェアによる評価—)

石風呂 実
展開医科学専攻病態薬物治療学講座
(医系総合診療科)

【目的】成人の生体肝移植におけるレシピエントの脾臓体積を多検出器列 CT と半自動容積測定ソフトウェアにより評価すること。

【対象と方法】肝硬変患者で肝移植（その内、肝細胞癌 31 患者）を受けた 48 患者（33 男性, 54 ± 8 才）で MELD スコアは 14 ± 6, 肝グラフト容積 / レシピエント肝重量比は 74% ± 28% であった。脾動脈塞栓術は行われなかった。3つの期間（術前, 術後 50 日以内, 術後 90 日以降）の脾体積を測定した。CT 検査と同日の血小板数を記録した。

【結果】脾体積測定に要した時間は 10 分以内であった。術前後で脾体積が縮小する傾向にあった（469 ± 270 ml, 369 ± 212 ml, 378 ± 210 ml, ANOVA 検定 : p=0.066）。血小板数（69 ± 32 × 10³/cm³, 146 ± 74 × 10³/cm³, 126 ± 64 × 10³/cm³）は術前と術後 50 日以内, 術前と術後 90 日以降で有意差を認めた（ANOVA と post hoc (Scheffé 法) 検定 : p<0.01）。

【結論】多検出器列 CT と半自動容積測定ソフトウェアを用いた脾体積測定は簡便で短時間に、肝移植の術後経過における脾退縮を評価することが可能である。

14. AML1/RUNX1 point mutation possibly promotes leukemic transformation in myeloproliferative neoplasms

(慢性骨髄増殖性疾患からの白血病移行メカニズムの解明)

丁 暉

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)

Myeloproliferative neoplasms (MPN) are clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by proliferation of one or more myeloid cell lineages. Some patients exhibit leukemic transformation (LT) by unknown mechanisms, and chemotherapy may increase the risk of LT. To clarify the molecular mechanisms of LT, gene alterations involved in LT from patients in the chronic phase (CP) of MPN were identified. Among 18 patients who progressed to leukemia, AML1/RUNX1 mutations were detected in five patients at the LT but in none at the CP. To investigate the leukemogenic effect of

AML1/RUNX1 mutants, the AML1D171N mutant was transduced into CD34⁺ cells from patients in the CP of MPN. The D171N transduction resulted in proliferation of immature myeloid cells, enhanced self-renewal capacity and proliferation of primitive progenitors. Taken together, these results indicate that AML1/RUNX1 point mutations may have a leukemogenic potential in MPN stem cells, and they may promote leukemic transformation in MPN.

15. Radiation Dose Measurement by Electron Spin Resonance Studies of Tooth Enamel in Lime and Non-lime Consuming Individuals from the Silchar Region of Northeast India

(北東インドのシルチャル地方の石灰摂取量の異なる集団の歯のエナメル質を対象とした電子スピン共鳴分析法による被ばく線量の測定と評価の研究)

Deborshi BHATTACHARJEE

展開医科学専攻病態情報医科学講座
(線量測定・評価研究分野)

電子スピン共鳴分析法 (ESR) による被ばく線量測定法は、放射線被ばく後の被ばく線量の推定に広く用いられている。北東インドの地域住民は異なった種類の頭頸部ガンを頻発し、発症率はインド全体の平均値よりも数倍高い。本研究の目的は、ESR 法を用いて北東インドのシルチャル地方周辺の住民の患者から集めた歯のサンプルを測定することにより、この地方での高いガンの発症の原因が放射線被ばくによるものであるか否かを評価することにある。13 歳から 60 歳の 19 人の患者の歯を調べた結果、歯のエナメル質から自然被ばくを差し引いた 123 ± 43 mGy の過剰の被ばく線量が認められた。しかも、個人それぞれの線量は石灰を摂取しないもの (2/13) よりも摂取するもの (5/6) において高いことが分かった。今回の結果から、シルチャル地方における高いガンの発症の原因が放射線被ばくによるものであるかは依然不明であり、より多くのサンプルの測定および喫煙の影響についても加味した幅広い研究が必要と考えられる。