

広島大学医学集談会

(平成12年1月6日)

—学位論文抄録—

1. Expression of full-length NBS1 protein restores normal radiation responses in cells from Nijmegen breakage syndrome patients

(ナイミーヘン染色体不安定症候群患者細胞における放射線損傷応答異常は完全長 NBS1 タンパクの発現により正常化する)

伊 東 淳 (放射線医学)

【目的】 NBS 原因遺伝子 *NBS1* の患者細胞での役割について *NBS1* タンパクを NBS 患者細胞内で発現させ放射線に対する細胞応答について解析した。

【方法】 *NBS1* cDNA を患者細胞に導入, 単離した。放射線感受性はコロニー法を用いて解析した。ウエスタンブロットと免疫染色を用い, *NBS1* タンパク発現の確認と放射線照射後の局在変化の解析を行った。細胞周期の変化の解析にはフローサイトメトリーを用いた。

【結果と結論】 *NBS1* cDNA 導入細胞は *NBS1* タンパクを高発現し, 正常細胞と同等レベルまで放射線感受性が回復した。放射線照射後に核内 *NBS1* タンパクのフォーカス形成を認めた。*NBS1* cDNA 導入細胞では正常細胞と同様の細胞周期変化を示すようになった。*NBS1* タンパクの発現により NBS 患者細胞の放射線応答に関する諸形質が正常化することから *NBS1* が NBS の原因遺伝子であることを機能的に証明した。

2. Plasma membrane recruitment of RalGDS is critical for Ras-dependent Ral activation

(Ras による Ral の活性化における RalGDS の細胞膜への局在の重要性)

松 原 賢 治 (内科学第一)

低分子量 GTP 結合蛋白質 Ras の標的蛋白質 RalGDS による低分子量 GTP 結合蛋白質 Ral の活性化機構について解析した。NIH3T3 細胞で Ras は細胞膜に, Ral も細胞膜に存在した。RalGDS は細胞質に認められたが, Ras と共に発現させると RalGDS は細胞膜に移動した。K-Ras の C 末端の膜移行シグナルを付加した RalGDS-CAAX は Ras 非存在下に細胞膜上に認

められた。細胞内で RalGDS は活性型 Ras 依存性に Ral を活性化したが, RalGDS-CAAX は活性型 Ras の非存在下に Ral を活性化した。Ras の結合のみでは RalGDS 自体の活性は変化していなかった。

以上より, 細胞膜上の Ras の活性化に伴って細胞質の RalGDS は細胞膜に移動して Ras と結合し, 細胞膜上の Ral を活性化することが示され, RalGDS の細胞膜への移動が Ral の活性化に必要な十分であることが明らかとなった。

3. Familial primary biliary cirrhosis in Hiroshima

(広島県における原発性胆汁性肝硬変の家族内集積についての検討)

辻 惠 二 (内科学第一)

PBC における環境および遺伝的要因との関わりを明らかにするために1988年から1997年の間に広島県に登録された PBC 156例について家族内集積例を検討した。方法 1. 家族内集積例の疫学的調査 2. 臨床像 3. HLA タイピング 4. AMA の発現パターンを Western immunoblot 法および ELISA 法にて測定した。成績: 1. a. PBC の家族歴のある人は5.1%の頻度で発症のリスクがあり, 一般の頻度 (0.0054%) に比べ944倍であった。b. 地理的や水系に明らかな要因は見つからなかった。2. 第2世代の年齢は33.4±10.8歳と一般の PBC 55.6±12歳に比べ若く, 子は親より進行した stage を呈していた。3. HLA タイピングは家族内発症例に特徴的なものは無かった。4. AMA の発現パターンでは同一家族内発症の PBC においても, AMA の対応抗原は異なるが, HLA の一致が高い症例においては同型の発現型が認められた。

4. Expression of the angiogenic factors in human gallbladder lesions

(ヒト胆嚢病変における血管新生因子の発現)

1. Expression of vascular endothelial growth factor in human gallbladder lesions

(ヒト胆嚢病変における血管内皮増殖因子の発現)

2. Expression of platelet-derived endothelial cell

growth factor/thymidine phosphorylase in human gallbladder lesions

(ヒト胆嚢病変における血小板由来血管内皮細胞増殖因子/チミジンホスホリラーゼの発現)

山本 滋 (内科学第一)

【目的】胆嚢病変における vascular endothelial growth factor (VEGF) と thymidine phosphorylase (TP) 発現の検討をした。

【方法】VEGF mRNA と蛋白の発現を検討し、PCNA-LI の評価を行った。TP に関しては、免疫染色と ELISA による評価をした。

【結果】VEGF 蛋白は、胆嚢癌先進部に強く発現し、mRNA 発現は蛋白の発現強度と相関した。VEGF 発現は血管数とよく相関したが、PCNA-LI や臨床病理学的因子との相関関係は無かった。TP は癌組織の上皮系細胞と間質細胞に高率に発現し、その間質細胞の多くは、マクロファージであった。ELISA で測定した癌組織の TP 蛋白レベルは、正常粘膜より高値で、間質細胞の TP 発現強度とよく対応した。TP 発現は血管数と相関しなかったが、深達度・リンパ節転移・病期に有意な相関を認めた。

5. Clinical significance of MUC1 and E-cadherin expression, cellular proliferation, and angiogenesis at the deepest invasive portion of colorectal cancer

(進行大腸癌浸潤先進部における MUC1, E-cadherin の発現, 細胞増殖, 及び血管新生の臨床的意義)

木村 敏久 (内科学第一)

進行大腸癌浸潤先進部における MUC1 発現, E-cadherin 発現, 細胞増殖活性, 及び血管新生と悪性度・予後との関連を検討した。

【対象と方法】外科的切除された進行大腸癌110例を用い、MUC1 発現, E-cadherin 発現, 細胞増殖活性の指標として Ki-67, 及び血管新生の指標として CD34 を免疫組織化学的に検索・検討し臨床病理学的因子との関連を検討した。用いた抗体は抗 MUC1 抗体 KL-6, 抗 E-cadherin 抗体 HECD-1, 抗 Ki-67 抗体 MIB-1, 及び抗 CD34 抗体 NU-4A1 である。

【結果と考察】癌浸潤先進部 MUC1 の発現, E-cadherin 発現の減弱, Ki-67 labeling index (LI), 及び MVC はすべて脈管侵襲, 転移および予後と有意に関連し, 悪性度の指標として有用である事が明らかになった。特に MUC1 発現と E-cadherin 発現の減弱の組み合わせ, Ki-67 LI と MVC の組み合わせはより予後の推定に有用であった。これらとその他の臨床病理学

的因子を含めた多変量解析の結果では, MVC が最も予後推定に重要な因子であった。

【結語】大腸癌浸潤先進部における MUC1, E-cadherin, Ki-67 LI, 及び MVC は進行大腸癌の悪性度の指標として, 予後の推定や追加治療の必要性判定などに有用であり, その中でも MVC が最も重要な因子であると考えられた。

6. Low density lipoprotein (LDL) binding affinity for the LDL receptor in hyperlipoproteinemia

(高脂血症患者における低比重リポ蛋白 (LDL) の LDL 受容体結合活性に関する検討)

豊田 康嗣 (内科学第一)

IIa, IIb, IV 型の各種高脂血症患者と健常者を対象とした。血清から超遠心法により LDL を分離し, 組成・粒子径および LDL 受容体に対する結合活性の分析を行った。受容体結合活性は ¹²⁵I でラベルした正常 LDL との competition assay により測定した。血清トリグリセライド (TG) 濃度が高くなるほど, LDL 分画の組成に占める TG・蛋白の比率が増加し, コレステロール・リン脂質の比率は減少していた。血清 TG 濃度と LDL 粒子径との間には強い逆相関を認めた。高 TG 血症患者の LDL は LDL 受容体結合活性が低下しており, 低下の程度は血清 TG の上昇度に並行していた。ベザフィブラート投与による高 TG 血症の改善に伴い, LDL 粒子に認められた組成・粒子径・受容体結合活性の異常はいずれも正常化した。抗酸化作用のあるプロブコール投与のみでは改善しなかった。受容体結合活性の低下した LDL は血中滞在時間の延長をきたし, 酸化などの変性を受けやすくなる一因と考えられ, 動脈硬化発症・進展予防における高 TG 血症治療の重要性が示唆された。

7. Effect of antisense human telomerase RNA (hTR) transfection on the growth of human gastric cancer cell lines

(ヒト胃癌細胞株の増殖におけるアンチセンス-ヒトテロメラーゼ RNA トランスフェクションの効果)

仲 一 仁 (病理学第一)

ヒト胃癌細胞株にヒトテロメラーゼ RNA (hTR) のアンチセンス RNA 発現ベクターをトランスフェクションして増殖抑制効果を検討した。アンチセンス hTR 発現ベクターは米国 Geron 社の Harley 博士より供与された。MKN-1, TMK-1 細胞はアンチセンス hTR 発現ベクター導入により細胞死, あるいは細胞老化が誘導された。これらの効果は hTR のアンチセ