

伝達系が存在している。RalBP1 結合蛋白質 POB1 (partner of RalBP1) は、EH (Eps15 Homology) ドメインを持ち、EGF 刺激によりチロシンリン酸化され、EGF 受容体と複合体を形成する。POB1 結合蛋白質として epsin と Eps15 を同定したが、両者は EGF やトランスフェリン受容体のエンドサイトーシスに関与している。Ral, RalBP1, POB1 と epsin の種々の変異体を A431 細胞や CHO-IR 細胞に導入し、リガンド依存性の EGF、インスリン受容体及びリガンド非依存性のトランスフェリン受容体のエンドサイトーシスに対する影響を検討した。いずれも EGF 及びインスリン受容体のエンドサイトーシスを抑制したが、Ral, RalBP1 及び POB1 はトランスフェリン受容体のエンドサイトーシスには影響しなかった。以上より、Ral, RalBP1 及び POB1 はリガンド依存性に epsin や Eps15 にシグナルを伝達し、エンドサイトーシスを制御している可能性が示唆された。

#### 6. 腱組織修復に関する実験的研究—血小板由来増殖因子 (PDGF) の作用について—

重 信 隆 史 (整形外科学)

【目的】血小板由来増殖因子 (PDGF) を用いて、損傷腱の修復を図る。

【材料と方法】実験1：家兎アキレス腱由来の線維芽細胞を用い、PDGF を培地に添加して3日間培養した。PDGF を添加しない対照群と細胞数の増加を比較した。実験2：日本白色種家兎30羽を用い、両足アキレス腱損傷モデルを作製して、PDGF 付着生体内吸収性縫合糸を左側に、右側に未処置の縫合糸を留置した。術後1日、1週、2週、3週、4週で安楽死させて肉眼的および組織学的に評価した。

【結果】実験1では PDGF が用量依存性に線維芽細胞の増殖を促進することが判明した。実験2では PDGF 投与群で細胞増殖の指標となる BrdU の取り込みが増加し、欠損部が対照群より早期に修復され、腱組織として成熟する傾向が認められた。細胞の悪性化は認めなかった。本研究から、治癒能力の乏しい腱組織の修復を PDGF が促進する可能性が示唆された。

#### 7. 損傷腱修復過程における癒痕組織形成の機序に関する実験的研究

鈴 木 修 身 (整形外科学)

本研究の目的は、腱損傷モデルを用いて、その周囲に形成された癒痕を組織学的に検討することである。ラットのアキレス腱を切断して縫合し、癒痕組織を術後1, 2, 3, 4週で評価した。ヘマトキシリン・エ

オジン染色では、1週で炎症細胞浸潤が、2週で血管新生が、3週から4週にかけては線維組織の増生が認められた。免疫組織化学染色の結果は、トランスフォーミング増殖因子 $\beta$ -1 (以下 TGF  $\beta$ -1) は1週で高度に発現したが、2週では著明に減少し、3週以後は認められなかった。一方、塩基性線維芽細胞増殖因子 (以下 bFGF) は、1週から4週まで継続して観察され、2週で最大値となった。In situ ハイブリダイゼーションの結果は、I型およびIII型プロコラーゲンの mRNA は、ともに1週から4週まで継続して観察され、2週で最大量の発現があった。すなわち TGF  $\beta$ -1 の発現が癒痕組織を形成する反応の早期の部分に関わっており、また bFGF の発現はコラーゲンの産生に関わっていると考えられた。

#### 8. ラット胎仔モデルで成長軟骨板を含んだ遊離移植骨は成長する

谷 祐 子 (整形外科学)

胎生期に成長軟骨板を含んだ腓骨を摘出後、異所性移植にてその成長能力を検討する目的で、生後15週齢の妊娠ラットの胎仔 (胎生19日) でモデルを作製し、生後6週における仔獣の生存率、手術肢の肉眼的所見、移植骨の長軸成長および組織学的所見について検討した。移植骨は生後6週時には胎内手術時の260%の成長を認め、非手術側群の75%に相当した。手術後肢には全例に下腿の発育障害がみられたが、下腿外側の手術部位に癒痕、発毛障害は見られなかった。生後6週での成長軟骨板には柱状配列が保たれていた。また、骨端軟骨の中心に骨端核を形成しているが、その出現が部分的に遅れている像がみられた。以上の結果より、ラットの胎仔の遊離骨移植では、成長軟骨板は生存し、内軟骨性骨化による長軸成長を認めた。今後、ヒトに胎内手術を応用するためには、胎児のどの時期に創傷治癒能力や骨成長能力が変化しているかを解明する必要があると思われる。

#### 9. Chronic electroconvulsive shock decreases (±) 1-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane hydrochloride (DOI)-induced wet-dog shake behaviors of dexamethasone-treated rats.

(デキサメタゾン処置ラットにおける行動変化に対する反復電気けいれんショックの改善作用)

小 鶴 俊 郎 (神経精神医学)

本研究では、デキサメタゾン (Dex) を慢性投与したラットにおける反復電気けいれんショック (ECS) の効果を検討した。ECS は、Dex 慢性処置による体

重増加と血清コルチコステロンの抑制およびセロトニン (5-HT)-2A 受容体数の増加に影響を及ぼすことなく、中枢神経系の 5-HT-2A 受容体を介する行動である (±) 1-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-2-amino-propane hydrochloride 誘発性 wet-dog shake の機能亢進を正常化させた。ECS は 5-HT-2A 受容体を up-regulation させると報告されてきたが、本研究において、ECS は Dex による 5-HT-2A 受容体機能亢進を正常化させることが明らかとなり、抗うつ薬慢性投与による 5-HT-2A 受容体の down-regulation と同方向の作用を示すことが初めて明らかにされた。

#### 10. Effect of lithium carbonate on the enhancement of serotonin 2A receptor elicited by dexamethasone

(セロトニン 2A 受容体機能亢進モデルラットに及ぼす炭酸リチウムの影響)

日 域 広 昭 (神経精神医学)

感情障害で想定されているセロトニン (5-HT) 2A 受容体機能亢進という異常状態に対する炭酸リチウム (Li) の影響を検討することを目的に、デキサメタゾン (Dex) と Li を14日間連続投与し、主に 5-HT2A 受容体結合実験、5-HT2A 受容体関連行動実験を行った。Dex 処置により 5-HT2A 受容体の密度、機能ともに増加しており 5-HT2A 受容体機能亢進モデルと考えた。健常ラットにおいて Li 処置は 5-HT2A 受容体の密度、機能に影響を及ぼさなかったが、5-HT2A 受容体機能亢進モデルラットに対して、Li 処置は 5-HT2A 受容体密度を減少させることなくその機能を抑制した。Li は Dex 処置による HPA axis の機能異常に対して影響を及ぼさなかったことから、Li は Dex による 5-HT2A 受容体機能の病的状態を正常化するが、その作用点は受容体以降に存在することが推測された。

#### 11. On site of grayanotoxin in domain 4 segment 6 of rat skeletal muscle sodium channel

(ラット骨格筋ナトリウムチャンネルのドメイン4セグメント6におけるグラヤノトキシンの作用部位について)

木 村 隆 広 (生理学第一)

グラヤノトキシンの作用部位が、ラット骨格筋 Na<sup>+</sup>チャンネル ( $\mu 1$ ) の D4S6 内にあるかどうかを、点突然変異体を作製し、HEK293 細胞にトランスフェクションを行い、全細胞記録法にてパッチクランプを用いて調べた。GTX は I1575A と Y1586A では修飾作用をほぼ示さず、F1579A では作用を強く示した。

F1579K と Y1586K では修飾作用をほぼ示さなかった。アラニンへの置換の結果からは、GTX が I1575 と Y1586 には直接作用を及ぼすが、F1579 では側鎖が短くなったため、GTX が結合部位に辿り着き易くなり、作用を強く示したと思われた。以上より、D4S6 内の I1575, F1579, Y1586 は GTX の作用部位であり、作用部位決定にはリシンよりアラニンへの置換のほうが有用である。バトラコトキシンの作用部位は I1575, F1579 とされているが、GTX とは完全には一致しない。

#### 12. Microsatellite instability in squamous cell carcinomas and dysplasias of the esophagus

(食道癌および食道異型上皮における遺伝子不安定性の検討)

香 川 佳 寛 (原医研・腫瘍外科)

本研究は食道癌の悪性度と Microsatellite instability (MSI) の関係、また MSI と carcinogenesis の関係を検討することを目的とし、食道扁平上皮癌41例、食道 dysplasia 41病変について MSI の有無とその意義について検討した。食道癌では41例中17例 (42%) で MSI を認めたが、MSI の有無と臨床病理学的因子とは有意な関係を認めなかった。食道 dysplasia では、mutator phenotype で27病変中21病変 (78%), non-mutator phenotype で17病変中5病変 (29%) で MSI 陽性であった。食道 dysplasia で MSI 陽性であったマイクロサテライト領域は、必ずしも primary cancer と一致せず、また病変ごとに異なる場合も認められた。以上より MSI は食道癌の悪性度を反映するものではなく、発癌過程の早期イベントとして関与する可能性が示唆され、dysplasia は軽度異型の状態ですでに MSI 陽性のものが存在するため、癌の発生母地として重要であることが示唆された。

#### 13. 虚血性心疾患死亡関連因子としての微量アルブミン尿の意義に関する研究

原 田 寿 子 (内科学第二)

広島原対協健康管理センターにおける 75 g 糖負荷試験被験者を対象とし、微量アルブミン尿 (MAU) の陽性化に関する因子、MAU 陽性と虚血性心疾患死亡との関連について検討した。

耐糖能別に臨床像をみると、MAU (+) 群は MAU (-) 群に比し、糖尿病群では、年齢、HbA1c、FPG、2時間血糖、SBP、DBP、BMI、総コレステロール、トリグリセライド、 $\Delta$ PWV が有意に高値であった。

糖尿病群では登録時、年齢、FPG、高血圧、BMI が