

# 広島大学医学集談会

(平成12年2月18日)

## —学位論文抄録—

### 1. Albumin permeability across endothelial cell monolayer exposed to reactive oxygen intermediates: Involvement of reversible functional alteration of the cell membrane $Ca^{2+}$ channels

(活性酸素種曝露による血管内皮細胞単層膜のアルブミン透過性：細胞膜カルシウムチャンネルの可逆的な機能変化)

佐伯 昇 (麻酔・蘇生学)

活性酸素種による肺動脈血管内皮細胞のアルブミンの透過性亢進における、SH基の redox state を介した  $[Ca^{2+}]_i$  制御の影響を検討した。

透過性の評価は、filter 上で単層膜を形成した肺動脈血管内皮細胞を介したアルブミンの透過量の測定により行った。 $[Ca^{2+}]_i$  は fura2 を用いて測定し、活性酸素種は xanthine/xanthine oxidase (X/XO) により発生させた。

X/XO は細胞を障害することなく  $[Ca^{2+}]_i$  上昇とアルブミンの透過性亢進を惹起したが、これらは X/XO 除去後も持続した。しかし細胞内 Ca chelator や Ca channel blocker ( $Ni^{2+}$ ) で  $[Ca^{2+}]_i$  上昇を抑制すると透過性は亢進しなかった。X/XO 除去後も持続する  $[Ca^{2+}]_i$  上昇は  $Ni^{2+}$  により抑制されたが、 $Ni^{2+}$  を除去すると再上昇し、アルブミン透過性は抑制されなかった。しかし、 $Ni^{2+}$  の代わりに SH 還元薬を用いると、上昇した  $[Ca^{2+}]_i$  が回復し、アルブミン透過性亢進も抑制された。

活性酸素種によるアルブミン透過性亢進には血管内皮細胞膜の Ca channels を介した持続的な  $Ca^{2+}$  流入が関与し、 $[Ca^{2+}]_i$  の上昇とアルブミンの透過性の変化には SH 基の redox state の変化が関与する。

### 2. Epileptic seizures induced by N-acetyl-L-aspartate (NAA) in rats: in vivo and in vitro studies

(N-アセチルアスパラギン酸により誘発されるラットのとんかん発作：インビボ及びインビトロにおける研究)

秋光 知英 (脳神経外科学)

N-アセチルアスパラギン酸 (NAA) は神経細胞内に多量に存在し aspartoacylase により代謝される。突然変異体の tremor rat は aspartoacylase を欠失しており NAA の脳内蓄積が認められ、欠神様発作、けいれん発作が観察される。そこで、NAA がてんかん発作の原因物質か否かを検討した。NAA を正常成熟ウイスターラット脳室内に投与すると脳波上、棘波と棘徐波複合が認められ、欠神様発作及びけいれん発作が誘発された。また、脳室内に投与した NAA は用量依存性に発作誘発率を増加させ、けいれん重積発作への移行率も増加させた。この作用は非選択的グルタミン酸レセプター遮断剤により拮抗された。Tremor rat においても低用量の NAA で同様の発作が誘発され、また、正常ラット海馬スライス標本において NAA は CA3 錐体ニューロンに頻回発射を伴う脱分極を惹起した。以上から NAA はグルタミン酸レセプターを介し、てんかん発作を誘発する物質であると考えられた。

### 3. Studies on diffusion-weighted imaging and apparent diffusion coefficient in patients with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) and progressive supranuclear palsy

(ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 (MELAS) および進行性核上性麻痺患者における拡散強調画像・拡散係数の研究)

大下 智彦 (内科学第三)

【目的】ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 (MELAS) 患者の脳卒中様病変と進行性核上性麻痺患者 (PSP) の大脳白質の拡散状態を MRI 拡散強調画像 (DWI) および拡散係数 (ADC) を用いて検討した。

【方法】1) MELAS 患者2名の発作前後で経時的に DWI を撮像し、脳卒中様病変の ADC を経時的に測定した。2) PSP 患者と健常者5名の T2 強調・DWI を撮像し、大脳白質4領域の ADC と T2 信号値を測定した。

【結果】1) MELAS の脳卒中様病変は DWI 上高信号を示し、ADC は発症早期から著明に上昇した。2)

PSPの前頭葉白質のADC値は有意に高かった。

【考察】MELASの早期脳卒中様病変では、血管原性浮腫が強く影響していると思われた。PSP大脳白質の拡散亢進は嗜銀性タウ蛋白異常構造のような病理学的異常を反映している可能性がある。

【結語】DWI画像とADC測定は、神経疾患において病態把握・病変検出に有用である。

#### 4. Gene therapy for murine renal cell carcinoma using genetically engineered tumor cells to secrete Interleukin-12

(Interleukin-12 遺伝子導入細胞によるマウス腎細胞癌に対する遺伝子治療)

笠岡良信(泌尿器科学)

マウス自然発生腎細胞癌細胞であるRenca細胞(以下親株)にレトロウイルスベクターを用いて146.7 ngのIL-12を分泌するIL-12遺伝子導入Renca細胞(Renca IL-12)を作製した。Renca IL-12において*in vitro*での細胞増殖能、細胞表面抗原の発現は、親株と差を認めなかったが、*in vivo*での腫瘍形成能は、親株に比べて低下していた。Renca IL-12細胞を拒絶したマウスの中には、親株を再接種を拒絶するマウスを認めた。腫瘍ワクチンとしてRenca IL-12を接種すると遠隔部位からの親株の腫瘍形成能が低下した。

以上の結果から*in vivo*における腫瘍形成能の低下は、腫瘍局所に高濃度で存在するIL-12を介した免疫系の関与が重要であると考えられた。IL-12遺伝子を導入した腎細胞癌細胞を用いる遺伝子治療は、進行腎細胞癌の治療の一つとなる可能性が示唆された。

#### 5. 電離放射線とマイトマイシンCに対して交叉感受性を示すハムスター irs1SF 細胞における HPRT 遺伝子の突然変異の解析

藤田和志(放射線医学)

【目的】irs1SF細胞を用い相同組換えの遺伝子XRCC3を解析し特性を明らかにすること。DNA修復欠損が示唆されるファンコニー貧血(FA)の遺伝子の機能の予想。

【方法】irs1SF細胞の $^{60}\text{Co}\gamma$ 線およびMMC感受性を確認した。 $^{60}\text{Co}\gamma$ 線でHPRT欠損突然変異を誘発し突然変異頻度を調べた。HPRT欠損細胞からDNAを抽出し多重PCR法を用いHPRT遺伝子の変異を解析した。次にFA-G群細胞の放射線照射後のNBS1蛋白の細胞内局在を調べた。

【結果】irs1SF細胞は放射線/MMC交叉感受性を

示しヒト14番染色体移入により回復した。irs1SF細胞の放射線誘発突然変異頻度は正常細胞と差がなかったが同じ生存率で比較すると低かった。irs1SF細胞では欠失型変異の割合が高かった。FA-G細胞ではNBS1フォーカス形成は正常であった。

【結語】irs1SF細胞は電離放射線/MMC交叉感受性、低い放射線誘発突然変異頻度、欠失型変異などFA細胞との類似性を示した。FA遺伝子は相同組換え後期過程の関与が示唆された。

#### 6. Visual event-related potentials in progressive supranuclear palsy

(進行性核上性麻痺における視覚性事象関連電位)

中野葉子(内科学第三)

【目的】初期の進行性核上性麻痺(PSP)患者において複数の視覚性事象関連電位(ERP)を記録し、改訂版長谷川式簡易痴呆スケール(HDS-R)との関連を検討した。

【方法】対象はPSP患者5名(HDS-R平均27.2点)と正常人7名(HDS-R平均29.8点)で視覚オドボール課題(図形、漢字)によりERPを記録しP300潜時、振幅、反応時間(RT)、正答率、およびHDS-Rとの関連を検討した。

【結果】PSP群では、漢字課題において正答率が低下し、RTが延長していた。図形課題では300潜時、振幅ともにHDS-Rと相関がみられた。

【考察】PSPでは課題を工夫する事で、病初期の高次機能障害を検出する事が可能であると思われた。

#### 7. 2型糖尿病長期経過観察症例における糖尿病細小血管障害の発症・進展危険因子に関する検討

岡村緑(内科学第二)

糖尿病の発症早期より20年以上定期的に経過観察が可能であった2型糖尿病患者49症例を対象に、網膜症と腎症の発症・進展の危険因子について検討した。対象はすべて観察開始時に網膜症と腎症とともに認めていない。糖尿病発症後20年目を最終観察時として網膜症と腎症の進行程度を評価し、それぞれ3群に分類して各合併症の発症・進行の推移について検討を行った。

糖尿病網膜症に関しては、1)高血糖は糖尿病発症早期より網膜症発症に寄与し、累積効果をもつ可能性が示唆された。2)高血圧は罹病期間と無関係に網膜症発症を促進すると考えられた。

糖尿病性腎症に関しては、1)高血糖は腎症発症に主役を演じているが、腎症進展の主因とならない可能