

い、虚血肝および非虚血肝の両葉から経時的に肝クッパー細胞を分離し、活性酸素産生能、サイトカイン産生能 (TNF α , IL1 β) を測定した。また Northern blot により肝組織中の炎症性サイトカイン (TNF α , IL1 β) の mRNA 発現についても検索した。

【結果】虚血肝および非虚血肝のいずれにおいても明らかな肝クッパー細胞の活性化が認められた。経時的には、まず再灌流早期に虚血肝において肝クッパー細胞が活性化され、これに引き続き産生される IL1 β , TNF α などの炎症性サイトカインにより再灌流中期以降は虚血肝のみならず非虚血肝の肝クッパー細胞の活性化が誘導されると考えられた。肝クッパー細胞は再灌流後72時間までは priming された状態にあり、虚血肝だけではなく非虚血肝にも十分な配慮が必要であることが示唆された。

3. Effects of N-(4-hydroxyphenyl) Retinamide on Urokinase-type Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Prostate Adenocarcinoma Cell Lines

(N-(4-hydroxyphenyl) Retinamide のヒト前立腺癌細胞における Urokinase-type Plasminogen Activator および Plasminogen Activator Inhibitor-1 に対する影響)

田 邊 徹 行 (泌尿器科学)

Urokinase-type plasminogen activator (uPA) および plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) を指標として N-(4-hydroxyphenyl) retinamide (4-HPR) の前立腺癌に対する浸潤抑制作用について検討した。

4-HPR を加えてヒト前立腺癌培養細胞株を培養し、uPA および PAI-1 の mRNA 量を検出した。また uPA, PAI-1 の濃度、uPA 活性値を定量した。更に Cycloheximide, Actinomycin D を用いて 4-HPR の作用

機序を検討した。

4-HPR は uPA, PAI-1 の mRNA 量、蛋白量を増加させたが、uPA 活性値は抑制した。4-HPR の uPA に対する効果は他の蛋白発現を介しており、また 4-HPR は uPA, PAI-1 の mRNA の安定性に影響を与えなかった。

4. Evaluation of p53 Gene Mutation and Loss of Heterozygosity of 3p, 9p and 17p in Precancerous Lesions of 29 Lung Cancer Patients

(肺癌29例の前がん性病変にみられた p53 遺伝子変異, 3p, 9p 及び 17p のヘテロ接合性の消失の評価)

西 阪 隆 (病理学第二)

異形成の前がん性病変しての特性を知るために、p53 遺伝子変異や 3p, 9p, 17p の LOH を検討した。対象は肺癌29症例の気道上皮にみられた異形成37病変 (軽度16, 中等度12, 高度9病変) と扁平上皮化生5病変, 中間細胞増生6病変, 上皮内癌4病変, 早期癌5病変であり、正常上皮15病変を対照とした。p53 蛋白の過剰発現は免疫組織化学的に検討し、microdissection により得られた病変の DNA により PCR-SSCP-sequence による p53 遺伝子変異と 3p, 9p, 17p の9つの microsatellite marker を用いて LOH の解析を行った。異形成の p53 蛋白の過剰発現は、軽度31%, 中等度50%, 高度67%に認められ、高度では22%に p53 遺伝子変異を認めた。LOH は軽度, 中等度異形成では 3p, 9p に、高度異形成では扁平上皮癌に相当する頻度の LOH を認めた。中間細胞増生にも LOH を認めた。以上より、異形成には扁平上皮癌と同様の遺伝子異常が存在し、前がん性病変の性格をもつことが明らかとなった。

第 4 4 6 回

広島大学医学集談会

(平成12年10月5日)

——学位論文抄録——

1. Effect of glucose on intercellular junctions of cultured human peritoneal mesothelial cells

(培養ヒト腹膜中皮細胞の細胞間結合装置に対する

グルコースの影響に関する研究)

伊 藤 孝 史 (内科学第二)

腹膜中皮細胞を単離、培養し、各種濃度グルコース培養液で刺激し、その viability を検討した。また、培養上清中の TGF- β 1 濃度を測定し、細胞間結合装置

の変化を蛍光抗体法および Western Blot 法にて検討した。さらに、TGF- β 1, TGF- β 中和抗体を添加し、その効果も検討した。

糖濃度が上昇するに伴い、viability は低下した。また、糖濃度の上昇に伴い上清中の TGF- β 1 濃度は上昇した。さらに、蛍光抗体法では ZO-1, β -catenin の発現が、Western Blot 法では ZO-1, E-cadherin, β -catenin の発現が糖濃度、TGF- β 1 濃度が上昇するに伴い減弱した。それらの障害は、TGF- β 中和抗体を添加することにより改善した。

以上より、高糖濃度は腹膜中皮細胞の細胞間結合装置に障害することが明らかとなり、そのことは腹膜機能低下の一因になりうると考えられた。

2. 慢性アルコール性膵炎の発生機序に関する実験的検討

—膵管癒合不全モデルの有用性について—

藤井辰義 (外科学第二)

慢性アルコール膵炎 (以下 CAP と略す) の発生機序は未だに不明な部分が多い。今回イヌの膵臓における膵管系の形態を利用し、膵の大・小膵管の間で切離すことで膵管癒合不全モデルを作製し、アルコールによる影響を肉眼的、病理組織学的及び膵液成分について比較検討した。

3ヶ月間のアルコール投与で、背側膵のみに肉眼的、病理組織学的に中等度の CAP 像を認めた。膵液分析においても、背側膵からの膵液のみ重炭酸濃度の低下などが認められ慢性膵炎の基準を満たした。非アルコール投与群では、背側膵に組織学的に軽度の膵管周囲の線維化が認められたが、膵液成分の変化はなかった。アルコール投与、非投与群の腹側膵では共に変化がなかった。

このモデルの背側膵と腹側膵において、膵管狭窄因子以外はすべて同一条件であり、CAP の発生において膵管狭窄は憎悪因子として作用していることが分かり、CAP モデルとして有用であることが立証された。

3. 好中球特異抗原を認識するモノクローナル抗体、TAG1, TAG2, TAG3 の特性

谷口菊代 (小児科学)

小児期の免疫性好中球減少症では好中球特異抗原の NA 系抗原や Fc γ RIII を標的とする抗体が病因となる場合が多く、対応抗原の同定は重要である。しかし現在までに作製されているモノクローナル抗体 (mAb) の種類は少なく、ほとんど市販されていないため、日常検査においても広く使用できる mAb の作製が望ま

れてきた。

本研究において TAG1, TAG2, TAG3 の3種類の Fc γ RIII 関連の mAb (IgG1, κ) を得た。特性は NA 系各型好中球, NA-null 好中球, 各種末梢血血液細胞, 白血病細胞由来培養細胞株, PI-PLC 処理好中球, 既存の Fc γ RIII 関連抗体を用いて主に Flow cytometry で解析した。結果から TAG1 は NA1 抗原, TAG2 は NA2 抗原, TAG3 は Fc γ RIIIb を認識できる抗体であり、表現型の決定に有用であると考えられた。またこれらの mAb を用いて抑制試験を行うことにより、血清抗体のより正確な抗原特異性の同定が可能であると考えられた。

4. Localization of prostaglandin E receptor subtypes in the ciliary body of mouse eye

(マウス眼の毛様体におけるプロスタグランジン E 受容体サブタイプの局在)

高松倫也 (眼科学)

【目的】マウスの毛様体筋でのプロスタグランジン E₂ (PGE) 受容体サブタイプを評価するために4種の受容体サブタイプ (EP₁, EP₂, EP₃, EP₄) の毛様体筋での局在を in situ hybridization 法を用いて調べた。

【対象と方法】各受容体サブタイプのメッセンジャー RNA に特異的な4種の RNA プローブを合成し、マウスの全眼球と陽性対照用の腎の凍結切片と RNA プローブを57°Cで結合させ (In situ hybridization), オートラジオグラフィ後に光顕下で観察した。

【結果】EP₁ と EP₄ サブタイプでは、毛様体の、特に強膜側の毛様体筋の存在すると思われる部分に強いシグナルが見られた。EP₂ と EP₃ サブタイプでは、毛様体に明瞭なシグナルは見られなかった。

【考察】マウス眼の毛様体筋では EP₁ と EP₄ 受容体が共存していた。毛様体筋は EP₄ 受容体刺激で弛緩するが、EP₁ 受容体刺激では収縮する。本来作用が相反する2種の受容体の毛様体筋での共存から、PGE は EP₁ 受容体と EP₄ 受容体の双方を刺激するが、ふたつの受容体サブタイプへの刺激による影響の差により、毛様体筋の緊張が弛緩と収縮の拮抗する力で調整されていると考えた。