

広島大学医学集談会

(平成13年1月4日)

—学位論文抄録—

1. A Novel β -Catenin-binding Protein Inhibits β -Catenin-Dependent Tcf Activation and Axis Formation

(β -カテニン依存性の Tcf の活性化と体軸形成を阻害する新規 β -カテニン結合蛋白質の同定)

坂本 郁夫 (眼科学)

β -カテニンは Wnt シグナル伝達系に關与する蛋白質の一つである。 β -カテニンは Wnt シグナルにより、安定化して細胞質から核に移行し、Tcf と複合体を形成して、標的遺伝子の転写を促進する。私共は β -カテニンと結合する新規蛋白質 Duplin (axis duplication inhibitor) を単離した。Duplin は749アミノ酸からなり、ラットの各組織に発現が認められた。免疫組織化学法と生化学的分画法により Duplin は核に存在することが確認された。Duplin のC端側に塩基性アミノ酸の集合部位があり、これが核移行シグナルと考えられた。Duplin は β -カテニンの安定性に影響せず、 β -カテニンのアルマジロリピートに直接結合して、 β -カテニンと Tcf の結合を阻害した。さらに Wnt 依存性および β -カテニン依存性の Tcf の活性化を阻害した。アフリカツメガエル胚に Duplin を注入すると体軸形成と β -カテニン依存性の二次体軸形成が抑制された。紫外線照射された胚の腹側化を β -カテニンは抑制するが、Duplin はこの β -カテニンの作用を阻害した。また、 β -カテニン依存性の *Siamois* の発現を抑制した。以上の結果から、Duplin は核内で Wnt のシグナルを抑制的に制御する因子であることが明らかになった。

2. Is Communication to Endocardium Necessary for Angiogenesis in Transmyocardial laser revascularization?

(トランスマイオカルディアル・レーザー・リバスキュラリゼーションにおける血管新生に左室よりの血流は必要か?)

柴村 英典 (外科学第一)

Transmyocardial laser revascularization (TMLR) に

よる狭心症状の改善の機序は明らかになっていない。しかし、TMLR により形成された channel 周囲に血管が新生されることが明らかになってきた。

この channel 内の血流と血管新生の関係を明らかにするために、心外膜より左室腔に貫通させた Transmural channel (TMC) と心外膜側から左室心筋内に盲端とした Non-transmural channel (NTMC) 作製し、周囲の血管密度を比較した。また心外膜側心筋と心内膜側心筋で channel 周囲の血管密度を比較した。

この結果、TMC 群の方が NTMC 群に比し、channel 周囲の血管密度が有意に高く、また心外膜側心筋に新生血管が多い事が示された。

TMLR 後の血管新生において、短期的であっても心筋内に血液が誘導されることが機序の一つであると考えられた。

3. Geranylgeranylacetone, a heat shock protein inducer, prevents primary graft non-function in rat liver transplantation

(ヒートショック蛋白誘導剤であるゲラニルゲラニルアセトンによる初期移植臓器機能不全の抑制について；ラット肝移植モデルを用いた検討)

札幌 保宏 (外科学第二)

【目的】Heatshock proteins (HSPs) の誘導は虚血再灌流障害抑制方法として有効である。抗潰瘍薬である Geranylgeranylacetone (GGA) がラット胃粘膜において HSPs を誘導し潰瘍形成を抑制することが報告された。今回、GGA による肝 HSPs の発現を検討し、温阻血再灌流障害に対する抑制効果を検討した。

【方法】ドナーラットに Vehicle, GGA を投与し、温阻血を加え同所性肝移植を行い検討した。

【結果】GGA 投与により1週間生存率は有意に改善し、灌流排液中肝逸脱酵素および肝移植後の TNF- α も有意に抑制されていた。肝病理学的所見でも GGA 投与群で肝細胞障害が著明に抑制されていた。さらに肝 HSPs の発現は、GGA 投与量依存的に増強していた。

【結論】GGA の経口投与は肝 HSPs を誘導し、移植後肝機能不全の発生を著明に抑制することが可能で

あり、その臨床応用が期待される。

4. Targeted chemotherapy using magnetic liposomes with incorporated anticancer drugs for osteosarcoma in hamsters

(制癌剤封入磁性体リポソームを用いたハムスター骨肉腫に対するターゲティング化学療法)

久保忠彦(整形外科)

【目的】全身化学療法において、より効果的な原発巣のコントロールを行うことを目的として磁性体封入リポソームを考案し、そのターゲティング化学療法効果について検討した。

【方法】酸化鉄とアドリアマイシン(ADR)を逆相蒸発法により封入したりポソームを作製した。これを右下腿三頭筋内に骨肉腫を移植したハムスターの頸静脈より投与し、磁気誘導の有無による薬剤集積性と抗腫瘍効果を比較検討した。

【結果および考察】透過型電子顕微鏡で酸化鉄を封入した平均粒子径 146 nm のリポソームを観察した。磁気誘導を行った群は、行わなかった群に比べ腫瘍内 ADR 濃度が有意に高く ($P < 0.01$)、著明な腫瘍増殖抑制効果を認めた ($P < 0.01$)。したがって、全身投与したこの ADR 封入磁性体リポソームは、磁性誘導により濃度依存性の制癌剤である ADR を腫瘍に集積させ、著明な抗腫瘍効果を生じることが証明された。

5. 阻血再還流による骨端軟骨細胞の細胞増殖と細胞死の観察

松野尚弘(整形外科)

阻血により骨端軟骨の障害が生じるが、そのメカニズムについては不明な点が多い。今回阻血再還流による骨端軟骨障害に関して、再還流早期の骨端軟骨の組織反応を骨端軟骨細胞の細胞増殖及び細胞死を中心に観察することで阻血による骨端軟骨障害の機序を検討した。5週齢の Wistar 系ラットを用いた。大腿動脈を残し大腿中央部で切断し、大腿動脈をクランプし一定時間の阻血を行った。対照群として手術操作のみ行い阻血再還流を行わない群を作成し阻血 0 時間群とした。Time course study と Time dependent study を行い、再還流後早期での骨端軟骨の組織反応を観察した。Time course study では再還流後 24 時間をピークとして細胞増殖、細胞死とも亢進した。Time dependent study では細胞増殖は阻血 4 時間を最大に亢進し細胞死は阻血時間依存性に増加した。透過電子顕微鏡の観察で阻血再還流による骨端軟骨細胞の細胞死はアポトーシスがほとんどであることがわかった。

6. Identification of Leukemia Inhibitory Factor as a Potent Mast Cell Growth-Enhancing Factor Produced by Mouse Keratinocyte Cell Line, KCMH-1 (マウスケラチノサイト細胞株 KCMH-1 より産生されるマスト細胞増殖促進因子としての leukemia inhibitory factor の同定)

田中稔彦(皮膚科学)

マウスケラチノサイト細胞株 KCMH-1 をマウスの皮膚に接種すると形成した腫瘍の周囲には多数のマスト細胞がみられる。マスト細胞と線維芽細胞の共生培養系に KCMH-1 の培養上清を添加するとマスト細胞の増殖が誘導される。この活性を特異的に中和する抗体を作成し KCMH-1 の cDNA ライブラリーから発現クローニングをおこない Leukemia inhibitory factor (LIF) をクローニングした。リコンビナント LIF は共生培養系で濃度依存性にマスト細胞増殖促進活性を示し、LIF の cDNA を導入した COS 細胞の培養上清中にも同様の活性がみられた。さらに KCMH-1 の培養上清中の活性は抗 LIF 中和抗体で中和されたことより、KCMH-1 の培養上清中の活性は主として LIF であることが確認された。以上の結果よりマスト細胞の増加をともなう皮膚疾患において、その病態形成にケラチノサイトが産生する LIF が重要な役割を担っている可能性が考えられた。

7. Acid-sensitive and Alkaline-sensitive Sensory Neurons Regulate pH Dependent Gastrin Secretion in Rat

(胃内 pH によるガストリン分泌調節機構におけるカプサイシン感受性知覚神経の関与)

野島啓子(内科学第一)

胃内 pH によるガストリン分泌調節機構におけるカプサイシン感受性知覚神経の関与について検討した。

【対象と方法】体重 200~250 g の Wistar 系雄性ラットを用い、カプサイシン非投与群とカプサイシン群を比較した。Omeprazole を経口投与(胃内アルカリ化)、あるいは Omeprazole を経口投与後 0.1 N HCl を経口投与(胃内酸性化)し、胃内 pH、血清ガストリン値、前庭部組織中ガストリンとソマトスタチンの含有量と mRNA を測定した。

【結果】胃内アルカリ化による血清ガストリン値の上昇はカプサイシン群で有意に抑制された ($p < 0.01$)。胃内酸性化による血清ガストリン値の低下はカプサイシン群で有意に抑制された ($p < 0.01$)。ソマトスタチンはカプサイシン投与により有意な変化を示さなかった。