

α B-crystallin 蛋白が出現する原因を明らかにする目的で、 α B-crystallin 陽性神経細胞と神経細胞の脱落、老人斑及び神経原線維変化との関連性を検討した。対象は臨床病理学的に Alzheimer 病と診断された4症例。 α B-crystallin 免疫染色を用いて4症例の大脳皮質における α B-crystallin 陽性神経細胞の分布とその特徴を検索した。 α B-crystallin 陽性神経細胞の出現頻度の高い部位は高度の神経細胞脱落を認める辺縁系と傍辺縁系であった。大脳皮質14ヶ所における α B-crystallin 陽性神経細胞密度と Methnamin 銀染色で老人斑（古典型と彌漫性）の密度及び Gallyas-Braak 染色で神経原線維（細胞内と細胞外）の密度を比較し、一次回帰法を用いて検討した。 α B-crystallin 陽性神経細胞密度と細胞外神経原線維変化密度とのみ有意な正の相関を認めた。 α B-crystallin の出現が高度に神経細胞が脱落している残存神経細胞内に発現していたことより、周囲の神経細胞死と深く関連していると考えた。 α B-crystallin 免疫染色と Gallyas-Braak 法の二重染色で観察したところ α B-crystallin 陽性神経細胞質内に ring 状の特異な神経原線維変化が形成されることが明らかになった。 α B-crystallin は細胞死と関連して出現し、発現細胞の長期維持と関わっている可能性があるが、過度に沈着することで細胞質内に神経原線維変化が出現することを明らかにした。

15. Genetic studies in Parkinson's disease with an α -synuclein/NACP gene polymorphism in Japan

（日本人パーキンソン病における α -シヌクレイン/NACP 遺伝子多型の検討）

和 泉 唯 信（内科学第三）

パーキンソン病 (PD) はもっとも多い神経変性疾患の一つである。PD 患者の脳幹部残存ニューロンに認められる好酸性細胞内封入体はレビー小体とよばれ、パーキンソン病の病理学的特徴である。 α -synuclein (α -SYN)/NACP はレビー小体の主要構成成分であり、そのプロモーター領域に二塩基繰り返し配列の多型が明らかにされた。今回、日本人 PD 患者群 (200名) と正常対照群 (250名) でその多型を検討した。標準的な方法で対象の末梢血より白血球を分離し、その DNA を抽出した。既知のプライマー REP 1 と REP 2 を用い、REP 2 を [γ - 32 P] ATP にて標識し、目的とする多型を含む部分を PCR 法にて増幅した。増幅した遺伝子産物をポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、269 bp=アリル 1, 271 bp=アリル 2, 273 bp=アリル 3, 267 bp=アリル 0, 265 bp=アリル-1,

263 bp=アリル-2と決定した。遺伝子型の頻度は、PD 患者群は2/0 (25.5%), 0/0 (21.5%), 2/1 (15.5%) の順に多く、正常対照群は2/0 (24.4%), 1/0 (18.8%), 0/0 (16.8%) の順に多かった。アリル頻度は両群間で有意差を認めず ($\chi^2=8.37$, $p=0.14$), どのアリルもアリル効果を示さなかった。この多型は日本人 PD 発症への関与は大きくないことが示唆された。

16. Axil, a member of the Axin family, interacts with both glycogen synthase kinase 3 β and β -catenin and inhibits axis formation of *Xenopus* embryos

(Axin ファミリーの一員である Axil はグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β と β -カテニンに結合し、アフリカツメガエルの体軸形成を抑制する)

山 本 英 樹 (生化学第一)

私は Wnt シグナル伝達経路におけるグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β (GSK-3 β) の作用機序を解明するために、GSK-3 β に結合する蛋白質の同定を試みた。その結果、新規蛋白質を2種類同定した。一つは Wnt シグナル伝達を抑制する Axin と同一であった。他の一つは Axin と44%の同一性があることから、私はこれを Axil (Axin like) と名付け、生化学的解析を行った。Axil は838アミノ酸からなり、組織全般に発現していた。Axil は GSK-3 β と β -カテニンに結合し、GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化を促進した。さらに、Axil の mRNA をアフリカツメガエルの背側に注入すると体軸形成の異常が認められた。また、Axil は Xwnt-8 によるアフリカツメガエルの二次体軸形成を抑制した。以上の結果から、Wnt シグナル伝達において Axil は GSK-3 β や β -カテニンと複合体を形成し、GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化を促進することによって β -カテニンの分解を制御して、その結果、アフリカツメガエルの初期胚における体軸形成を制御することが示唆された。

17. Complex formation of adenomatous polyposis coli gene product and Axin facilitates glycogen synthase kinase-3 β -dependent phosphorylation of β -catenin and down-regulates β -catenin

(APC/Axin 複合体はグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β 依存性の β -カテニンのリン酸化と分解を促進する。)

檜 井 俊 英 (内科学第二)

Wnt シグナルにおいて Axin は、GSK-3 β , APC, β -カテニンと複合体を形成し GSK-3 β による β -カテ

ニンのリン酸化と分解を促進する。この複合体内での APC の役割は不明であり、今回の解析を行った。 β -カテニン非結合型 Axin の単独, Axin と β -カテニンに結合可能型 APC の単独では GSK-3 β での β -カテニンのリン酸化を促進せず, 両者の存在下で促進された。また, このリン酸化は Axin の APC 結合領域により抑制された。SW480 細胞 (APC が Axin 結合不能型変異) に β -カテニン非結合型 Axin を発現しても β -カテニンは分解されず, L 細胞 (正常 APC) への発現では Wnt 依存性の β -カテニンの蓄積および Tcf の転写活性亢進が抑制された。しかし, β -カテニン非結合型 Axin から APC 結合部位を除去すると, L 細胞におけるこの機能が消失した。以上より, APC と Axin が結合し Axin 上の GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化と分解の促進が明らかになった。

18. Dysregulation of telomerase activity and expression in lymphokine-activated killer cells from advanced cancer patients
(進行癌患者における活性化リンパ球のテロメラー

ゼ活性発現障害)

南 一 仁 (原医研・腫瘍外科)
担癌患者においては, 病期の進行に伴い免疫能が低下し, リンパ球の増殖刺激に対する反応性が低下する。このリンパ球増殖能低下の原因を, 進行癌患者活性化リンパ球に誘導される telomerase 活性および telomere 長変化の観点より検討した。また, 進行癌患者血漿中に telomerase 活性誘導を抑制する因子が存在するかどうか検討した。進行癌患者の活性化リンパ球は, 分裂寿命が短縮しており, 増殖刺激にて健常者活性化リンパ球と同様に telomerase 活性が誘導されるが, その発現は遅延し, 加えて telomere 長が十分に維持されなかった。また, 進行癌患者血漿中には telomerase 活性誘導を抑制する因子が存在し, この一つとして IL-10 の関与が示唆された。以上より, 進行癌患者のリンパ球には, telomerase 活性誘導および telomere 長維持機構の障害が存在し, これらが, リンパ球の分裂寿命短縮をもたらし, ひいては担癌患者の免疫能が低下することが推測された。

第 4 5 2 回

広島大学医学集談会

(平成13年5月2日)

—学位論文抄録—

1. Quantitative MR evaluation of intracranial epidermoid tumors by fast fluid-attenuated inversion-recovery imaging and echo-planar diffusion-weighted imaging
(FLAIR と拡散強調画像による頭蓋内類上皮腫の MRI 定量評価)

陳 書 達 (脳神経外科学)

T1, T2, プロトン密度 (PD) では診断困難であった類上皮腫に対して, FLAIR 像, エコープラナーを用いた拡散強調画像 (DWI) を含んだ 5 撮影を行い, それらを定量評価しどの方法が最も優れているかを検討した。その結果 1. FLAIR では類上皮腫の信号強度は有意に髄液より高く, 脳実質よりも低かった。FLAIR での腫瘍と髄液のコントラスト比 (CR) およびコントラストノイズ比 (CNR) は 4.71 および 9.17 であり, 従来の T1, T2, PD より有意に高かった。2.

DWI では類上皮腫は髄液や脳実質と比較して著明に高信号として描出され, 腫瘍と髄液の CR および CNR は 13.25 および 19.34 であり, FLAIR より有意に高かった。3. 類上皮腫の拡散係数 (ADC) は 0.971 から 1.461, 平均 1.197×10^{-3} であり, 髄液の平均 ADC 3.498×10^{-3} より有意に低く, 脳実質の平均 ADC 1.002×10^{-3} より有意に高かった。以上から, FLAIR は従来の撮影方法よりも類上皮腫を描出するには優れた方法で, DWI は類上皮腫と髄液, 脳実質とのコントラストが良好となり最も優れた方法であった。DWI で類上皮腫が高信号となるのは, ADC 値より脳実質と比べ腫瘍内拡散が制限されているわけではなく, T2 shine through 効果のためであった。

2. Use of Bleomycin- and Heat shock-Induced Calreticulin Promoter for Construction of a Mammalian Expression Vector
(ブレオマイシン及び熱処理により誘導発現するカ