

### ルレティキュリンプロモーターを用いた新規真核細胞用発現ベクターの構築

Hashim Mohamed Ali Elmileik (小児科学)

NIH/3T3 へのブレオマイシン (Bm) の添加により過剰発現する蛋白質の一つは熱ショック蛋白質カルレティキュリンであると同定された。本研究では、カルレティキュリンプロモーター (CP) を取得し、かつ、CP を利用した Bm 誘導型発現ベクターの開発を行った。

NIH/3T3 よりクローン化した CP 遺伝子をルシフェラーゼ構造遺伝子 (*Luc*) のすぐ上流に挿入したベクターを構築した。本ベクターを導入した NIH/3T3 を Bm 存在下または 42°C にて培養したところ、*Luc* の発現は Bm 添加では無添加の 1.5 倍、また、42°C での培養は 37°C に比べ 2 倍高かった。これは CP が Bm あるいは熱に反応して、CP 支配下の標的遺伝子を誘導発現させることを示唆する。

Bm 結合蛋白質遺伝子 *blmA* を導入した細胞はフリーの Bm 濃度を低下させることから、CP の支配下に *blmA* を配置したベクターを構築した。本ベクターは Bm 投与患者の肺線維症対策に貢献できると思われる。

### 3. Abnormal signals on proton density-weighted MRI of the superior cerebellar peduncle in progressive supranuclear palsy.

(進行性核上性麻痺における MRI プロトン密度強調像の上小脳脚異常信号の検討)

岡 正 樹 (内科学第三)

【目的】進行性核上性麻痺 (PSP) において、上小脳脚の MRI 異常信号の有無を検討した。

【対象と方法】9 人の PSP 患者、20 人のパーキンソン病 (PD) 患者および 20 人の健常者。MRI プロトン密度強調像 (PDWI) および T2 強調像 (T2WI) での上小脳脚異常信号の有無を視覚的に評価し、各グループで比較した。

【結果】PSP 患者 9 人中 4 人で、PDWI での上小脳脚の低信号が消失あるいは不明瞭となっており、異常信号が認められた。PD 患者および健常人では PDWI での上小脳脚異常信号は認められなかった。また、T2WI ではどのグループにも上小脳脚異常信号はみられなかった。

【結論】PDWI における PSP の上小脳脚異常信号は脱髄やグリオーシスを反映した所見と考えられる。PSP の鑑別において、PDWI での上小脳脚の評価は有用と思われる。

### 4. Expression of C-C chemokines in bronchoalveo-

### lar lavage cells from patients with granulomatous lung diseases

(肉芽腫性肺疾患患者の気管支肺胞洗浄細胞における C-C ケモカイン発現に関する研究)

大 島 美 紀 (内科学第二)

【目的】肉芽腫性肺疾患の病変における C-C ケモカイン発現を検討し、一般的所見か、疾患に特有の所見かを明らかにする。

【対象と方法】サルコイドーシス 17 例と HP 4 例について、特発性間質性肺炎 (CFA) 10 例をコントロールとして気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、C-C ケモカインの発現を半定量的 RT-PCR 法で評価した。

【結果】RANTES, MIP-1 $\alpha$  発現量は、サルコイドーシスと HP において有意に増加し、MIP-1 $\beta$  は HP において有意に増加していた。RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  発現量は、BAL 液中のリンパ球比率と正の相関を示し、MIP-1 $\beta$  は、リンパ球 CD4/8 比と負の相関を示した。MCP-1 は、各疾患群間で有意差はみられなかった。

【考察】MCP-1 はびまん性肺疾患の炎症に非特異的に、RANTES と MIP-1 $\alpha$  は肉芽腫性炎症の病態形成に、HP には特に MIP-1 $\beta$  が関与していると考えた。

### 5. Coronary atherosclerosis and oxidative stress as reflected by autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and oxysterols

(冠動脈硬化と酸化ストレス：抗酸化 LDL 抗体とオキシステロールからの検討)

安 信 祐 治 (内科学第一)

臨床研究及び動物実験から、LDL が酸化修飾を受けた酸化 LDL やコレステロールの酸化産物であるオキシステロールの動脈硬化発生、進展への関与が解明されてきている。そこで冠動脈疾患 (冠動脈造影を施行した 183 例；男性 124 例、平均年齢 58.9 歳) と抗酸化 LDL 抗体およびオキシステロールレベルとの関連について検討した。血清中の抗酸化 LDL 抗体、及び 4 種類測定したオキシステロールの中で、25 $\alpha$ -、27 $\alpha$ -、7 $\beta$ -hydroxysterol が冠動脈狭窄群で正常群に比べ有意に高値を示した (419 $\pm$ 48.7 vs. 273 $\pm$ 21.4 mU, 28.2 $\pm$ 5.0 vs. 13.1 $\pm$ 2.3, 47.7 $\pm$ 4.8 vs. 30.4 $\pm$ 4.3, 98.9 $\pm$ 8.7 vs. 67.9 $\pm$ 6.8 pmol/ml; P<0.01, P<0.05, P<0.05, P<0.05)。さらに抗酸化 LDL 抗体は、不安定狭心症群で安定狭心症に比べ有意に高値を示した (591 $\pm$ 97.9 vs. 292 $\pm$ 33.5 mU; P<0.01) がオキシステロールにおいては有意差を認めなかった。以上より血

清中の抗酸化 LDL 抗体, オキシステロールは酸化ストレスの指標として冠動脈狭窄の有効な指標となる可能性, 特に, 抗酸化 LDL 抗体は冠動脈病変の不安定性の指標となる可能性が示唆された。

#### 6. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase is induced in decidual stroma without direct invasion by trophoblasts

(脱落膜間質細胞には, 栄養膜細胞の直接的な浸潤がなくとも, Membrane-type 1 matrix metalloproteinase が誘導される。)

中野正明 (産科婦人科学)

ヒト正常子宮内膜 (増殖期10例, 分泌期初期4例, 分泌期後期4例) と脱落膜 (正所性壁脱落膜3例, 異所性脱落膜3例) におけるmembrane-type 1 matrix metalloproteinase (以下 MT1-MMP) の発現を定量的 RT-PCR 法, in situ hybridization および免疫組織染色法で検討した。

MT1-MMP mRNA 発現量は検体間で有意差は認めなかったが, その局在は特徴的で, 正常内膜では上皮に認め, 間質には認めず, 脱落膜では正所性, 異所性ともに間質に認め, 上皮には認めなかった。タンパクは内膜では上皮に認め, 間質には認めなかったが, 脱落膜では正所性, 異所性ともに上皮と間質ともに認めた。

MT1-MMP mRNA とタンパクの発現が, 子宮内膜上皮から栄養膜細胞のない脱落膜の間質へと変化したことは, 胚盤胞の着床に合目的的であり, hCG などの液性因子の間接作用によることが示唆された。

#### 7. Tumor invasion is inhibited by phosphorylated ascorbate via enrichment of intracellular vitamin C and decreasing of oxidative stress

(ビタミンCリン酸化誘導体による細胞内ビタミンC高濃縮化と酸化ストレス減少を介した癌浸潤抑制作用)

長尾則男

(原医研・環境生物・放射線応答)

安定性に優れたアスコルビン酸-2-リン酸エステル (Asc2P) を用いて癌の浸潤転移に及ぼす影響を癌細胞の増殖には影響を与えない濃度で, 正常ヒト血中ビタミンC濃度である  $40\sim 250\ \mu\text{M}$  を考慮した処理濃度で調べたところ, ①Asc2P はマウス実験的肺転移モデルにおいて癌細胞の注入後5日間連続投与で, 33%の肺転移を抑制した。②in vitro でビタミンCそのものを連続処理した場合, 浸潤能と移動能が60%, ③

Asc2P では80~94%抑制した。④その効果は細胞内へのビタミンC蓄積率に依存した。⑤その作用機序として細胞外マトリックス分解酵素発現を産生段階で MMP-2 が60%, MMP-9 で71%抑制したが, 活性段階や mRNA 量には影響なかった。⑥ラジカル消去剤として細胞内の酸化ストレス状態を減少させることが蛍光色素法と ESR/DMPO 法から示された。ビタミンCの抗転移作用が期待される。

#### 8. Work physiological study on an indirect methods of estimating $\dot{V}O_2$

(間接的酸素摂取量推定法に関する運動生理学的研究)

川口浩太郎 (保健学科, 内科学第二)

本研究では, 研究1として末梢筋の酸素動態が全身の酸素摂取を反映するかについて, 近赤外分光法を用いて検討し, 研究2では, 運動負荷試験により片麻痺患者にとって簡便な上肢エルゴメーター片手駆動を用いた間接的な負荷量からの酸素摂取量推定式を新たに作成することを目的とした。

その結果, 近赤外分光法によって得られた値の平均値と酸素摂取量には有意な相関が認められ, 運動中の末梢筋酸素動態は, 全身の酸素摂取を反映していると考えられた。また, 片麻痺患者の酸素摂取量-負荷量関係式は  $\dot{V}O_2\ (\text{ml}/\text{min}) = (\text{kg}/\text{min} \times 4.2\ \text{ml}/\text{kg}) + ((4.2\ \text{ml}/\text{kg}/\text{min} \times \text{kg body weight}) + 105.6\ \text{ml}/\text{min})$  ( $r=0.847$ ) と表され, 酸素摂取量実測値と比較しても有意差は認められなかった。

これらの結果は, 末梢筋の酸素動態や負荷量から間接的に  $\dot{V}O_2$  が推定可能であることを示すものである。