

in vitro で POB1 と Epsin は cdc2 キナーゼによってリン酸化された。リン酸化された Epsin および Epsin^{S357D} と POB1, α -アダプチンとの結合は減弱した。Epsin^{S357D} 発現細胞ではインスリンの取り込みが抑制されなかった。

【結語】 Epsin の M 期でのリン酸化により, POB1 と AP-2 との結合が抑制されることが M 期でエンドサイトーシスが停止する一因である可能性が示唆された。

20. Expression of telomere related molecules and DNA repair enzymes in human gastric cancer (ヒト胃癌におけるテロメア関連因子および DNA 修復酵素の発現)

1. Expression of telomeric repeat binding factor 1 and 2 and TRF1-interacting nuclear protein 2 in human gastric carcinomas (ヒト胃癌における TRF1, TRF2 および TIN2 の発現解析)

2. Expression of MRE11 complex (MRE11, Rad50, NBS1) and hRAP1 and its relation with telomere regulation, telomerase activity in human gastric carcinomas (ヒト胃癌における MRE11 complex (MRE11, Rad50, NBS1) および hRAP1 の発現解析)

松谷 憲政 (内科学第一)

TRF1, 2 はテロメア長を制御, テロメア末端を保護し, tankyrase, TIN2, hRap1 はこれらと結合する。また, MRE11 complex はテロメア構造に関与する。ヒト胃癌組織でこれら因子を解析した。

【材料と方法】 ヒト胃癌組織20症例の腫瘍, 非腫瘍部を使用し, 上記因子の mRNA 発現を RT-PCR 法

にて検討し, 内15症例ではテロメア長を測定した。

【結果】 20例中に TRF1 で10例, TRF2 で12例, tankyrase で12例, TIN2 で6例, hRAP1 で13例, MRE11 で13例, RAD50 で14例, NBS1 で16例に腫瘍部で mRNA 高発現を認めた。短テロメア群はテロメラーゼ活性が高く, TRF1, 2 の発現が多い事を認めた。以上, 胃癌では上記因子がテロメア長およびテロメラーゼ活性を制御しており, それらが癌細胞における染色体の安定性を介した細胞の不死化に関与している可能性が示唆された。

21. Precancerous hepatic nodules had significant levels of telomerase activity determined by sensitive quantitation using a hybridization protection assay

(HPA 法による前癌肝結節のテロメラーゼ活性の高感度定量的測定)

高石 英樹 (内科学第一)

従来の TRAP (telomeric repeat amplification protocol) 法では高分化型肝細胞癌と前癌病変の間での低いレベルのテロメラーゼ活性の比較は困難であった。本研究では高感度に測定できる TRAP/HPA (hybridization protection assay) 法を用いて腺腫様過形成, 肝細胞癌, 慢性肝疾患および正常肝におけるテロメラーゼ活性を測定し検討した。腺腫様過形成は正常肝や慢性肝疾患より有意に高いテロメラーゼ活性を示す一方で, 高分化型肝細胞癌より低いテロメラーゼ活性を示したが有意差は無かった。さらにテロメラーゼ発現の cutoff 値を MKN-1 細胞 2 個相当で評価したところ, テロメラーゼ活性は非癌肝組織では発現を認めず, 腺腫様過形成では半数で発現を認めた。以上の成績より, 肝発癌におけるテロメラーゼ活性は腺腫様過形成へ脱分化する段階より発現し始めることが示唆された。

第 4 6 0 回

広島大学医学集談会

(平成14年2月1日)

— 学位論文抄録 —

1. センダイウイルス V 蛋白に高度に保存されたアミノ酸のウイルス病原性と RNA editing における重要性

福原 徳子 (細菌学)

センダイウイルス (SeV) の V 蛋白はマウスでのウイルス増殖を促進する機能をもつと考えられている。V 蛋白特異的 (Vu) 領域にはパラミクソウイルス亜科に共通して保存されたアミノ酸が RNA editing 部位の

直後からの連続した4個(領域I), Vu領域のほぼ中央部に5個(領域II), C端側の zinc-finger-like regionには6個(領域III)保存されている。これらのアミノ酸に変異を導入して, 9個の変異ウイルスを複製し, 保存されたアミノ酸のV蛋白の機能における意義を検討した。領域IIIの保存されたアミノ酸は亜鉛と結合する構造をとることによって, 領域Iと領域IIの保存されたアミノ酸は亜鉛結合とは関係なく一定の蛋白構造を与えることによって, V蛋白の機能に重要な役割をもつことが示された。また, editing部位のすぐ下流のヒスチジンがコードされる塩基配列がRNA editingに影響することが明らかとなった。

2. Prevention by long-term fermented miso of radiation injuries and azoxymethane induced colonic aberrant crypt foci

(完熟味噌による放射線防御および Azoxymethane (AOM) 誘発 Aberrant crypt foci (ACF) の抑制)

小原正之(原医研・環境変異)

味噌の生理機能解析の一貫として, 放射線防御および AOM 誘発 ACF 抑制作用を検討した。熟成度の異なる味噌を MF 餌に混入し, 放射線照射1週間前より投与した。味噌は Co- γ 線 8Gy 照射によるマウスの生存期間を延長し, X 線 7-12Gy 照射後の小腸再生腺窩の数と丈を増加させた。なかでも完熟味噌が最も効果が大きかった。

一方, 同様の味噌を投与し, AOM 15 mg/kg/週 \times 3回投与により誘発される大腸 ACF に対する影響を検討した。完熟味噌は ACF を他の味噌に比較しても減少させた。総 AC 数は中期味噌が完熟味噌に比べて増加させた。また, 完熟味噌は増殖域, 増殖指数を仕込み直前味噌に比べて減少させた。

以上の結果, 完熟味噌は放射線照射による消化管死並びに骨髓死に対し防御作用を示した。更に AOM により誘発される ACF も抑制し, その作用機序として DNA 合成の抑制が関与するものと考えられた。

3. Cellular sensitivity determinants to docetaxel in human gastrointestinal cancers

(ヒト消化器癌におけるドセタキセルの効果規定因子)

朴智善(原医研・分子情報)

ヒト消化器癌細胞を対象にドセタキセル (TXT) 効果規定因子を策定し, 同剤の著明な効果増強をもたらす修飾標的を明らかにすることを試みた。ヒト大腸癌細胞, 胃癌細胞, 食道癌細胞7株を用いて, 計13種

の抗癌剤効果関連因子の遺伝子発現量, 生化学的定量値と TXT 効果との相関解析を行った。また, 関連性が示唆された遺伝子に関しては, 活性阻害実験, 遺伝子導入実験, TXT 接触による遺伝子発現変動解析を行った。その結果, β -TUB, GST π , および Bcl-XL が TXT の効果に深く関与していることが示され, なかでも GST π は, TXT 効果(耐性)に最も深く関与する因子であり, TXT 効果の増強を得るための重要な修飾標的であると考えられた。GST π 遺伝子発現量は TXT 治療後に TXT 低感受性細胞で著しく増加し, エタクリン酸による GST 活性阻害により消化器癌7細胞すべてに対する TXT の効果が有意に増強した。

4. Suppression of postmitochondrial signaling and delayed response to UV-induced nuclear apoptosis in HeLa cells

(HeLa 細胞における UV 誘発核アポトーシスに対するポストミトコンドリアシグナルの抑制と遅延応答)

笹井香織(原医研・放射線応答)

細胞種による細胞死誘発の違いを明らかにするため, 2種の細胞について解析した。3SB細胞と Jurkat 細胞に紫外線 (20 J/m²) を照射すると, 2時間でミトコンドリア因子が細胞質へ流出した後, 3時間以内に核の断片化や DNA 鎖切断が生じ, 同時に各 caspase の活性化フラグメントが出現した。一方, HeLa 細胞と MCF-7 細胞では照射後12時間以上培養した後核の縮小や不規則なクロマチン凝縮が生じた。しかし, ミトコンドリア因子の流出と caspase-7, -9 の活性化フラグメントは比較的早い4~6時間後に検出した。HeLa 細胞での caspase-3 の活性は同遺伝子が欠損している MCF-7 細胞と同程度の低い値を示し, また, DNA 鎖切断は caspase の阻害剤で抑制されなかった。以上の結果から, 細胞種によってアポトーシス動態が異なり, さらに HeLa 細胞における遅延型アポトーシスには caspase 非依存的な DNA 分解酵素が関与していることが明らかとなった。

5. Osteoporosis following chronic constriction injury of sciatic nerve in rats

(絞扼性坐骨神経損傷ラットにおける骨粗鬆)

須山豪通(麻酔・蘇生学)

【目的】痛覚過敏など複雑性局所疼痛症候群 (CRPS) 患者に似た症状を呈する坐骨神経緩結紮 (CCI) ラットにおいて, CRPS 患者に, 時に認められる骨粗鬆の発生の有無を検討すること。