

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。

【対象と方法】温熱性痛覚過敏を確認した CCI ラット30匹を5群に分け、各々 CCI 手術の1, 2, 3, 5, 7週間に脛骨の骨塩量, 骨密度, 脛骨近位側骨端線における単位面積あたりの TRAP 陽性破骨細胞数を測定した。

【結果】骨塩量は全群で, また骨密度は術後2, 3, 5, 7週群で, それぞれ健側に比し患肢に有意な減少を認め, 破骨細胞数は術後2, 3, 5週群で患側に有意な増加を認めた。

【考察】本研究から坐骨神経緩結紮によりラットで骨粗鬆が生じることが初めて明らかになった。今後, 疼痛による患肢の不動化と神経損傷による神経原性反応の2つの側面から, この骨粗鬆のメカニズムの解明が必要である。

【結論】CCI ラットでは坐骨神経緩結紮側に骨粗鬆が生じる。

6. Prevention of development of N, N'-dimethylhydrazine-induced colon tumors by a water-soluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia in male ICR mice

(靈芝菌糸体培養基熱水抽出物による N, N'-dimethylhydrazine 誘発マウス大腸腫瘍の抑制効果)

陸 惠 梅 (原医研・環境変異)

N, N'-dimethylhydrazine (DMH) によって誘発されるマウスの大腸腫瘍に対する MAK の抑制効果を病理組織学, 細胞増殖並びに細胞の β -catenin 染色性の観点から検討した。6週齢の Crj: CD-1 雄マウスに 10 mg/kg を皮下に週1回で合計10回投与した。DMH の投与1週間前より屠殺時まで MAK の混餌を投与した, 対照群として MF 餌を用いた。MAK は, DMH でマウス大腸に誘発される ACF の数と腫瘍の大きさを有意に減少した。PCNA 免疫染色による細胞増殖指数や増殖域並びに腫瘍部位において悪性化の一つの指標である β -catenin の核陽性細胞率を有意に減少した。さらに MAK 群では, MF 群で誘発された腺癌が認められず, 代わりに MF 群に比べて多数の微小腺腫の発生を認めた。MAK 抗腫瘍効果の作用機序の一つは, 腫瘍の増殖を抑制する事によると考えられる。MAK は大腸腫瘍に対してがん予防効果のあることが示唆された。

7. Immunofluorescence detection of gastric H⁺/K⁺-ATPase and its alterations as related to acid secretion

(胃の H⁺/K⁺-ATPase の免疫蛍光染色による検出

と胃酸分泌に関連した変化)

姜 暁 艶 (解剖学第二)

H⁺/K⁺-ATPase に対する抗体を用いて, ラット胃の免疫蛍光染色を行うことにより, 個々の壁細胞の酸分泌活性を, 粘膜全体にわたって, 初めて形態学的に評価した。壁細胞の染色パターンは網状, 瀰漫性および混合の三種類に分け, 酸分泌能の活性(網状が高く, 瀰漫性が低い)を示すと考えられた。各パターン別の壁細胞数から推測された粘膜全体としての酸分泌活性は, 胃内の pH とよく対応していた。また, 酸分泌活性は, 粘膜深層の細胞では低下していた。ミトコンドリアとの二重染色を行うと, ミトコンドリアは分泌細管を取り囲むように局在し, エネルギー依存性の水素イオン輸送が効率的に行われていると考えられた。一方, 粘膜深層では両者が離れており, この効率が悪いと考えられた。これらのことは, 壁細胞の分化・成熟段階と関係があると考えられた。

8. Effects on articular cartilage of subchondral replacement with polymethylmethacrylate and calcium phosphate cement

(PMMA セメントとリン酸カルシウムセメントによる軟骨下骨置換が関節軟骨に及ぼす影響)

久 留 隆 史 (整形外科学)

本研究は自家骨・PMMA セメント・リン酸カルシウムセメントを用いて軟骨下骨置換を行い, 関節軟骨に及ぼす影響を組織学的ならびに力学的に検討した。家兎の大腿骨顆部に軟骨下骨を全切除したモデルと軟骨下骨を約 2 mm 残したモデルを作製し, 軟骨下骨欠損群及び自家骨, PMMA セメント, リン酸カルシウムセメントで補填した群をそれぞれ 3・12・24週で屠殺し, 関節軟骨の評価及び骨形成を観察した。軟骨下骨を全切除したモデルでは, 早期に全例高度な軟骨変性を生じた。軟骨下骨を 2 mm 残したモデルでは12週以降で PMMA セメント補填群で軟骨変性を生じたが, リン酸カルシウムセメント補填群では対照群と明らかな違いを示さなかった。力学的には PMMA セメントとリン酸カルシウムセメントによる軟骨下骨置換の特性に差は認められなかった。以上の結果により, 関節軟骨に近接した骨欠損に対してリン酸カルシウムセメントは軟骨下骨置換材として有用であることが証明された。

9. ラット胎仔の脊髄再生に関する実験的研究

山 崎 健 (整形外科学)

胎内手術によるラット胎仔の脊髄損傷モデルを作製