

また、肝線維化の進展に伴い肝組織中 PTN mRNA の発現は、四塩化炭素投与後7週でコントロールに比べて約5倍増加することを確認した。さらに、前癌病変は PTN 免疫染色で陽性であった。

【結語】 PTN は肝線維化の進展に関与している可能性が考えられ、線維化肝における腫瘍形成との関連が示唆された。

16. Frequent alterations in the Wnt signaling pathway in colorectal cancer with microsatellite instability

(遺伝子不安定性を示す大腸癌における Wnt シグナル伝達経路の異常)

清水 洋 祐 (外科学第二)

散在性大腸癌における Wnt シグナル伝達経路の異常 (APC と β -catenin) は、8~9割と報告されている。一方、遺伝性大腸癌である HNPCC は遺伝子不安定性が原因となり癌化すると考えられている。しかし、我々は病理組織像において両者に大きな差を認めないことに着目し、遺伝子異常は概ね共通しているという仮説を立て、HNPCC の Wnt シグナル伝達経路の異常を検討した。ところが HNPCC における APC と β -catenin の異常は15%しか認められなかった。そこで我々は新規癌抑制遺伝子 Axin が HNPCC の標的遺伝子ではないかと考えその解析を行ったところ、6病変の機能ドメインに異常を認めた。また、転写因子 TCF4 の A (9) 配列が遺伝子不安定性の標的となるかを解析したところ、38%に変異を認めた。以上より HNPCC の発癌に Wnt シグナル伝達経路の異常が関与していることが明らかとなった。

17. Novel system for generating cytotoxic effector lymphocytes using carcinoembryonic antigen (CEA) peptide and cultured dendritic cells. — Induction of peptide-pulsed dendritic cell-activated killer (PDAK) cells

(癌胎児性抗原 (CEA) ペプチドと培養樹状細胞を用いた細胞障害性リンパ球の新しい培養システムについて — Peptide-pulsed dendritic cell-activated killer (PDAK) 細胞の誘導)

大田 耕 司 (原医研:腫瘍外科)

【目的】 CEA ペプチドと樹状細胞を用いて抗原特異的な効果細胞 (PDAK) を誘導し検討した。

【方法】 樹状細胞誘導の後 CEA ペプチドをパルスし PBMC と混合培養, CEA-PDAK 細胞を誘導した。これを T2, KATO III, WiDr 細胞を標的とした細胞障

害活性測定および抗 class I, TCR $\alpha\beta$, V β 7, 12, 14 抗体, CEA 蛋白による Blocking assay を施行した。TCRV β usage は RT-PCR-Southern blotting にて検討した。

【結果】 CEA-PDAK は CEA, HLA 拘束性の細胞障害活性を認め、IL-2/CD3 システムでは機能を失うことなく大量培養できた。TCRV β usage は 7, 12 で発現の増加を認めた。

【結語】 CEA ペプチドと樹状細胞を用いることで CEA-PDAK 細胞を誘導し大量培養することが可能であり、癌抗原特異的養子免疫療法の可能性が示された。

18. 胃癌における臨床病理学および分子生物学的予後予測因子の検討

—多変量解析による予後予測因子の同定—

西本 直 樹 (原医研:腫瘍外科)

胃癌において臨床病理学的因子及び分子生物学的因子を用い、腹膜転移や肝転移の予測、さらに予後予測の可能性について多変量解析により検討した。当科で切除された原発胃癌切除症例165例について10の分子生物学的因子の発現について免疫組織学的染色を施行した。ロジスティックモデルによる多変量解析の検討では、腹膜転移に関してはリンパ節転移、間質型について K-sam および c-met の両者陽性であるものが腹膜再発予後予測因子として同定された。肝転移に関しては深達度について MMP-9 が有意な独立した再発予後予測因子であった。予後予測因子の検討では Cox の比例ハザードモデルを用いた多変量解析を行うとリンパ節転移、深達度、間質について K-sam 及び c-met 両者陽性所見が独立した因子であった。従って本研究により胃癌の再発や予後予測因子に関して臨床病理学的因子に分子生物学的因子を加えて検討することがより有用であることが示された。

19. Clinical implications of dynamic MRI for pituitary adenomas: clinical and histologic analysis

加納 由香利 (脳神経外科学)

Dynamic MRI study は、造影剤静注後早期に連続的な画像を得る方法であり、造影効果の強さや時間経過は、支配血管の種類、血液量、組織の種類を反映する。今回、下垂体腺腫67症例に dynamic MRI を施行し、その造影パターンの違いから腺腫の特徴を術前に把握することができるかどうか検討した。正常下垂体と比較した造影時間の違いにより、下垂体腺腫を4パターンに分類し、このパターンに関与する因子を検討

した。結果は、腫瘍径が大きいものは有意に ($p < 0.04$) 早期に造影され、超早期に造影される腫瘍は5例中3例で性状は fibrous であった ($p < 0.018$)。Fibrous な性状を持つ腺腫が必ずしも早期造影されるわけではなかったが、線維成分の多寡が早期造影効果に関わっている可能性が示唆され、dynamic MRI による造影パターンの違いは、術前腫瘍の性状を知る手がかりになり得ることが判明した。

20. 肩腱板の修復機転に関する実験的研究

—修復における滑膜の役割について—

菊川 和彦 (整形外科学)

肩腱板の修復機転に滑膜がおよぼす影響について検討した。実験1: ヒト腱板組織を用い、欠損のみ作成した F 群、欠損部を腱板で充填した R 群、欠損部を滑膜で充填した S 群を作成し、器官培養を行った。培養1, 2, 4週で組織学的に評価し、I型プロコラーゲンの発現を観察した。S群では滑膜組織と腱板組織が癒合し、I型プロコラーゲンはF群、R群より強く発現していた。実験2: ラット腱板に欠損のみ作成した D 群、欠損部に滑膜組織を移植した G 群を作成した。術後1, 2, 4, 8週で組織学的に評価し、PCNA 陽性細胞、I型、III型プロコラーゲン mRNA の発現を観察した。腱成熟点数、PCNA 陽性細胞率は D 群より G 群が高値を示し、I型、III型プロコラーゲン mRNA の発現は D 群は滑膜組織が隣接する腱板表層の滑液包側と関節側に、G 群は滑膜組織に隣接する腱板全体に認められた。本研究より、滑膜が腱板の修復機転に有効に作用することが示唆された。

21. α -helix 2 in the amino-terminal Mad homology 1 domain is responsible for specific DNA binding of Smad3

(Smad3 の DNA 結合特異性における Mad homology 1 領域内の α -helix 2 構造の重要性)

草薙 聖 (眼科学)

TGF- β , activin, 骨形成因子 (以下 BMP) などによって構成される TGF- β スーパーファミリーの細胞内シグナルは、Smad によって伝達される。哺乳類で同定されている Smad1 から Smad8 までの8種類の Smad のうち、Smad2/3 は TGF- β /activin のシグナルを、Smad1/5/8 は BMP のシグナルを特異的に伝える。受容体によって活性化された Smad が、核内で Mad homology 1 (MH1) 領域を介して DNA に結合する際、Smad3 と Smad1 はそれぞれに特異的な塩基配列を認識、結合する。本研究では、Smad1/Smad3 キメラ蛋

白を用いて、ゲルシフトアッセイおよびルシフェラーゼアッセイを行い、Smad の DNA 結合特異性に関する構造解析を試みた。その結果、Smad3 の DNA 結合特異性には、MH1 領域内の α -helix 2 構造が重要であることが示唆された。

22. In situ localization of nitric oxide synthase and direct evidence of NO production in rat retinal ganglion cells

(ラット網膜神経節細胞における一酸化窒素合成酵素の局在と一酸化窒素合成の検討)

津間本 裕一 (眼科学)

【目的】胎生後期および生後のシナプス形成過程にある網膜神経節細胞が NO 合成酵素 (NOS) を発現し、実際に NO を合成しうるかを目的とした。

【方法】胎齢後期、幼若期および成熟期のラット網膜を固定、凍結切片を作成、nNOS, eNOS に対する抗体を用いて免疫組織化学的手法により、その発現について経時的な観察を行った。さらに、NO 蛍光指示薬 DAF-2DA を用いて培養網膜神経節細胞における NO 産生を観察した。

【結果】生後2週間まで網膜神経節細胞に n および eNOS は発現していた。培養神経節細胞においてグルタミン酸刺激により NO 合成が観察された。NOS の非選択的阻害剤及び nNOS の選択的阻害剤によって NO 合成は有意に抑制された。

【考察】発生段階における網膜神経節細胞では神経回路の構築の過程においてグルタミン酸-NO 経路が関与していることが示唆された。またその NO は nNOS によって合成された。

23. Existence of ionotropic glutamate receptor subtypes in cultured rat retinal ganglion cells obtained by magnetic cell sorter method and inhibitory effects of 20-hydroxycyclopropane, a neurosteroid, on the glutamate response

(磁気細胞分離システムで得られた培養ラット網膜神経節細胞におけるイオン型グルタミン酸受容体サブタイプの存在と、20-ヒドロキシエクジソン (神経ステロイド)によるグルタミン酸反応の抑制効果)

向井 聖 (眼科学)

磁気細胞分離システム (MACS) で分離後に培養した網膜神経節細胞 (RGC) におけるグルタミン酸受容体サブタイプが発現しているか明らかにするためパッチクランプ法により電気生理学的に研究した。次いで、網膜には神経ステロイドが存在することから、神経ス