

4. Irsogladine malate up-regulates gap junctional intercellular communication between pancreatic cancer cells via PKA pathway

(PKA 経路を介した Irsogladine malate によるヒト膵癌細胞間コミュニケーションの制御)

川崎 陽介

(創生医科学専攻・先進医療開発科学講座・分子病態制御内科学)

【目的】膵癌細胞 (PANC-1) におけるコネクシン (Cx) の発現と, gap junctional intercellular communication (GJIC) の調節機構を検討した。

【方法】PANC-1 での Cx43 蛋白発現を Western Blot 法 (WB)・蛍光免疫染色で行い, PKA シグナル経路との関連を, irsogladine (IM), PKA 経路阻害剤・cAMP 誘導体で細胞を処理し同様に評価した。GJIC への IM の影響を, dye transfer assay で評価した。また細胞内 cAMP 濃度を ELISA 法にて測定した。

【結果】PANC-1 は Cx43 を発現していた。IM は Cx43 の膜への局在を誘導し GJIC を増加させた。細胞分画の WB では膜分画での Cx43 リン酸化が亢進していた。この局在変化は PKA 経路阻害剤で抑制された。また, IM により, 細胞内 cAMP 濃度の上昇が認められた。

5. Ocular development-associated gene (ODAG), a novel gene highly expressed in ocular development

(眼球発生期に高い発現のみられる新規遺伝子 ODAG)

敦賀 孝典

(創生医科学専攻・先進医療開発科学講座・視覚病態学)

生後2日目と10日目のマウス眼球内での mRNA の発現レベルを DNA アレイで調べ, 生後2日目に高い発現のみられるクローンが複数個得られた。それらのうち, 生後10日目には発現が抑制される新規遺伝子 ocular development-associated gene (ODAG) に注目した。出生前後の発現レベルを RT-PCR で調べたところ, 胎生13日目から生後6日目まで高い発現がみられるものの, 生後10日目以降発現が消失していた。マウス ODAG は266のアミノ酸から成っており, GENBANK のデータベースの検索より, ヒト ODAG の cDNA とゲノム DNA 配列が得られた。マウス ODAG は, 生後2, 7日目ともにマウスの眼球内のあらゆる組織で発現がみられるのに対し, 生後14日目では発現がみられなかった。これらの発現パターンから, ODAG は眼球の発生に関与している可能性が示唆された。

第465回

広島大学医学集談会

(平成14年8月1日)

—学位論文抄録—

1. Heterogeneity of expression of cytokeratin subtypes in squamous cell carcinoma of the lung: With special reference to CK14 overexpression in cancer of high-proliferative and lymphogeneous metastatic potential

(肺扁平上皮癌における cytokeratin subtype の発現の多様性の検討: 殊に高い増殖能を示す症例とリンパ行性転移例における CK14 の過剰発現についての検討)

坪河 太

(展開医科学専攻・病態情報医科学講座・病理学)

肺癌は組織多様性の強い腫瘍で, 肺扁平上皮癌においては分化度以外に予後の指標となる組織, 細胞所見についての詳細な検討はない。一方, CK は上皮系の中間径フィラメントで, 細胞の種類や分化に応じて subtype の特異的な発現を認める。そこで本研究では肺扁平上皮癌45例について, 免疫組織化学的に CK subtype の発現と胞巣形態や角化などの組織所見との相関を明らかにし, かつ腫瘍細胞の増殖能やリンパ節転移との関連を検討した。その結果, 肺扁平上皮癌における CK14 の発現は, 腫瘍胞巣辺縁部での増殖, 間質の結合織の増生を伴う浸潤及びリンパ節転移との相関をもつことが明らかとなった。すなわち, CK subtype の発現の変化は, 肺扁平上皮癌の増殖能及び悪性度の指標となることが示され, 肺扁平上皮癌の分類に

は単に形態学的分化度を用いるより、CK subtype の免疫組織化学的染色を用いることが有用と判断された。

2. Analysis of T cell receptors reactive with squamous cell carcinoma antigen SART-1 presented by the HLA-A24 molecule

(HLA-A24 拘束性扁平上皮癌拒絶抗原 SART-1 に反応する T 細胞受容体の解析)

清水 克彦

(原医研：ゲノム疾患治療研究部門腫瘍外科)

HLA-A24 健常人末梢血単核球付着細胞より樹状細胞を誘導後 SART-1 peptide を pulse し抗原提示とし、自己末梢血単核球から PDAK (peptide-pulsed dendritic cell-activated killer) 細胞を誘導した。(1) PDAK 細胞の細胞障害活性は SART-1 peptide 特異的、HLA 拘束性であった。(2) PDAK 細胞の TCRVb usage を RT-PCR-Southern blotting 法にて解析したところ clonality を認め、誘導後は Vb18 の増加が認められ、この CDR3 領域の配列を同定した。(3) Clonotypic PCR では primer のデザインから計算された PCR 産物の大きさに一致するバンドが認められ、また、刺激の回数に伴ってこのバンドが誘導された。(4) PDAK 細胞は腫瘍局所浸潤能の指標の 1 つとされる CCR5 を発現していた。

3. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) 投与 Donryu ラットに誘発した拡張型心筋症

石村 美祐 (原医研：細胞再生学)

加熱肉中に存在する発癌性ヘテロサイクリックアミンである 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) の 75mg/kg/日 を Crj: Donryu ラットに隔日 10 回強制経口投与したところ、52 週の観察期間に拡張型心筋症での死亡が多発した。心臓の経時的観察では投与開始 4 週以降に左心室の心筋細胞の空胞化/壊死、炎症性細胞浸潤、線維化、心房内血栓及び左心室拡張が、更に、超微形態的に心筋細胞の筋原線維減少、筋小胞体拡張及びミトコンドリア数の増加が認められた。また、PhIP の 20, 40 及び 75mg/kg/日 で心筋組織内の PhIP-DNA adduct 量は投与開始 4 週後に用量依存的に増加した。これらの結果から、PhIP によるラットでの拡張型心筋症発現は心筋細胞における PhIP-DNA adduct 形成が関与した心筋障害作用に起因していると考えられた。

4. Augmentation of local antitumor immunity in liver by interleukin-2 gene transfer via portal vein

(経門脈的 interleukin-2 遺伝子導入による抗腫瘍免疫の増強)

丹治 英裕

(創生医科学専攻・先進医療開発科学講座・外科学)

経門脈的に肝臓へ IL-2 遺伝子を導入し、大腸癌肝転移阻止効果と類洞内細胞の抗腫瘍活性を検討した。ラットは 6 週齢雄 F344, 腫瘍細胞は同系の大腸癌細胞株 RCN-9 を用いた。ベクターとして IL-2 cDNA を組み込んだアデノウイルス (AdIL-2) を用い、lacZ を組み込んだ AdlacZ を対照とした。RCN-9 と AdIL-2 を投与した治療群 (I 群), RCN-9 と AdlacZ の無治療群 (II 群), RCN-9 のみの対照群 (III 群) に分けた。I 群の累積生存率は、II 群及び III 群に比べ有意に延長した。処置後の類洞内細胞分画をみると、I 群は II 群及び III 群に比べ NK 細胞が有意に増加していた。NK 細胞の RCN9 に対する細胞障害活性は I 群にのみ認め、また I 群に anti-asialo GM-1 投与すると生存延長効果は消失した。以上の結果から、AdIL-2 の投与により肝類洞内 NK 細胞が活性化され、抗腫瘍効果を示すことが確認された。

5. Propofol relaxes extrapulmonary artery but not intrapulmonary artery through nitric oxide pathway

(プロポフォールの肺動脈拡張作用は、肺外肺動脈では一酸化窒素を介し、肺内肺動脈では一酸化窒素を介さない)

田中 裕之

(展開医科学専攻・病態制御医科学講座・麻酔蘇生学)

プロポフォールの肺動脈への作用について、肺外肺動脈 (EPA) と肺内肺動脈 (IPA) の 2 つの部分に分けて検討し、一酸化窒素 (NO) の関与についても検討した。

ウィスター系雄性ラットを用いて長さ 3 mm の EPA と IPA の血管リングの等尺性張力を測定した。至適静止張力下にフェニレフリンで前収縮させた後のプロポフォール、NO 合成酵素 (NOS) の阻害薬で前処置した後のプロポフォール、ニトロプルシドナトリウム (SNP) のそれぞれの濃度反応関係を得た。

プロポフォールは EPA と IPA の両方を濃度依存性に拡張させた。プロポフォールは EPA をより強く拡張させたが、NOS の阻害薬によりこの反応は消失した。SNP の 50% 阻害濃度は EPA と IPA で差がなかった。