

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) を使い、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。

プロボフォールは肺動脈に対して拡張作用を示すが、その程度は EPA と IPA で異なり、その理由として血管内皮由来の NO を介する機序の違いが考えられた。

6. Prostaglandin E₁ at clinically relevant concentrations inhibits aggregation of platelets under synergic interaction with endothelial cells
(臨床使用濃度のプロスタグランジン E₁ は内皮細胞との相乗作用で血小板凝集を抑制する)

古賀 知道
(展開医科学専攻・病態制御医科学講座・麻酔蘇生学)

血管内皮細胞上清の存在下におけるプロスタグランジン E₁ (PGE₁) の血小板凝集抑制作用の作用濃度の検討をブタ大動脈血管内皮細胞を用いて行った。

健康成人より採血して作成した多血小板血漿を用いて、コラーゲンで刺激して血小板凝集能測定を行い、PGE₁ と内皮細胞上清の血小板凝集抑制作用を測定した。

PGE₁ の血小板凝集抑制作用は 10ng/ml 以上で認めた。内皮細胞をブラジキニンで刺激した上清の血小板凝集抑制作用は、ブラジキニンの濃度依存性に増加したが、終濃度 0.1ng/ml 以上の PGE₁ を加えることでその血小板凝集抑制作用は有意に増強した。またインドメタシン, L-NAME での前処置により上清の血小板凝集抑制作用は減少したが、この抑制作用は PGE₁ の濃度依存性に回復した。

これらの結果から、0.1ng/ml 以上の濃度の PGE₁ は内皮細胞の血小板凝集抑制作用を増強する薬剤であることが示唆された。

7. Growth regulation of bovine retinal pericytes by transforming growth factor- β 2 and plasmin
(TGF- β 2 及びプラスミンによる培養ウシ網膜周皮細胞の増殖の調整)

桂 真理
(創生医科学専攻・先進医療開発科学講座・視覚病態学)

毛細血管はその内腔を形成する 1 層の内皮細胞とその周囲に存在する周皮細胞とからなる。内皮細胞と周皮細胞は相互に関係して細胞の増殖や機能を調整していると考えられている。網膜毛細血管の内皮細胞と周皮細胞との関係において、サイトカインの一つ TGF- β が重要な役割をになっていると考えられている。TGF- β のうち眼組織に最も多く存在する TGF- β 2 と培養ウシ網膜周皮細胞 (以下周皮細胞) を用い

て実験し、次のような知見を得た。

周皮細胞の培養液に TGF- β 2 を加え、[H³]-thymidine の取り込みを用いて DNA 合成を測定した。周皮細胞は TGF- β 2 の濃度依存性に DNA 合成が抑制された。次に、Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定し周皮細胞が TGF- β 2 を分泌することを確認した。この分泌された TGF- β 2 を抗 TGF- β 2 抗体で中和すると周皮細胞の DNA 合成は増加した。この結果から、周皮細胞は自己が分泌した TGF- β 2 によってその増殖を調整していると考えられた。

一方、培養液中にプラスミンを添加した場合には周皮細胞の DNA 合成はプラスミンの量依存的に増加した。もし添加したプラスミンが周皮細胞から分泌された安定型 TGF- β を活性化させる経路のみにより周皮細胞に影響を与えるのであれば、DNA 合成は抑制されるはずである。このことはプラスミンが TGF- β の活性化とは別の経路で周皮細胞の DNA 合成に影響を与えていることを示している。

プロテアーゼ阻害剤であるアプロチニンを同時に作用させるとプラスミンの DNA 合成促進作用は阻害された。また、培養液中の周皮細胞から分泌された TGF- β 2 をプラスミンを添加した場合としない場合とで比較するとプラスミンを添加した場合に有意に減少しており、プラスミンが TGF- β 2 の産生を抑制している可能性が示唆された。

これらの実験結果から、ウシ網膜周皮細胞に対して TGF- β 2 とプラスミンはそれぞれ DNA 合成抑制および促進作用を有しており、周皮細胞の増殖の調節に拮抗的に作用していると考えられる。網膜毛細血管の微小環境において、周皮細胞の増殖が制御されており、糖尿病を含む種々の疾患でこの制御の破綻が網膜血管病態生理に関与すると考えられる。

8. Functional proteomics of transforming growth factor- β 1-stimulated Mv1Lu cells: Rad51 as a target of TGF β 1-dependent regulation of DNA re-pair

(TGF- β 誘導蛋白質のプロテオミクスによる解析: Rad51 を標的タンパクとして)

金本 尚志
(創生医科学専攻・先進医療開発科学講座・視覚病態学)

Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) は細胞内シグナル伝達系を有しているが、最近では他の細胞内シグナル伝達系に関与しその最終的結果として細