

# 広島大学医学集談会

(平成15年5月1日)

## —学位論文抄録—

### 1. Effect of BCL-2 on cellular life span

(BCL-2の細胞寿命への影響)

#### 1) Effect of BCL-2 down-regulation on cellular life span

(BCL-2発現抑制の細胞寿命への影響)

#### 2) Life span shortening of normal fibroblasts by overexpression of BCL-2: a result of potent increase in cell death

(BCL-2過剰発現による正常線維芽細胞の寿命短縮: 細胞死増加の結果)

熊崎 努

原医研(遺伝子診断・治療開発研究分野)

BCL-2は細胞死抑制蛋白質である。正常線維芽細胞でBCL-2レベルを抑制したところ、細胞寿命が約15%短縮された。BCL-2抑制細胞で約2倍の細胞死が観察され、それは抗酸化剤により抑えられたので、活性酸素種が主な原因と示唆された。逆にBCL-2を増加させた場合、細胞寿命が延長されると考えられる。ところが、実際BCL-2を過剰発現させたところ約16%寿命が短くなった。過酸化水素やドキシソルピシン処理後の形態観察では、BCL-2過剰発現細胞により多くの死細胞が観察された。この細胞死はカスパーゼ阻害剤により抑えられたので、主にアポトーシスと示唆された。MAPキナーゼ経路の阻害剤でこの細胞死が完全に抑えられたので、この経路の細胞死推進への関与も示された。従って、正常細胞におけるBCL-2量は至適状態にあり、そこから減少しても著しく増加しても細胞死が増え、その結果、細胞寿命が短縮されると考えられる。

### 2. Attachment of autogenous tendon graft to cortical bone is better than to cancellous bone

(自家移植腱の骨への固着は皮質骨の方が海綿骨より有利である)

曾田 是則

展開医科学専攻病態制御医科学講座(整形外科学)

自家移植腱が骨と早期に強固な固着をすることは骨トンネル法による靭帯再建術の成功を握る鍵の1つである。本研究の目的は、母床骨の骨質の相違が自家移植腱と骨との固着に与える影響を解明することである。

成熟日本白色家兎33羽に膝内側側副靭帯再建モデルを作製し、力学的、組織学的に検討した。本研究結果より、移植腱の骨への固着は、組織学的には各週時とも骨質の差はなく同等であったが、力学的には引き抜き試験の破断時最大荷重は、術後4週で海綿骨に対してより皮質骨に対しての方が有意に大きかった。これは、骨質の相違により層状骨から腱に貫くシャープー様線維の量的な差によるものと考察した。

皮質骨を基盤とし周囲に間葉系細胞の侵入を期待できる骨髄に富む海綿骨の存在で、移植腱との固着が有利になるものと思われた。臨床応用として、骨トンネル法の靭帯再建だけでなく、骨に腱を固着させる腱移行の改良の一助になるものと考察した。

### 3. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair

(末梢神経欠損部位において神経前駆細胞移植は神経修復を促進する)

村上 健

展開医科学専攻病態制御医科学講座(整形外科学)

本研究の目的は培養神経前駆細胞を末梢神経欠損部位に移植し、神経修復を促進できるかどうかを検討することである。神経前駆細胞は胎仔ラット海馬より採取し、bFGF存在下に増殖させた。まず神経前駆細胞が、コラーゲンを含む培地内で未分化な状態での自己複製能と多分化能を維持していることを免疫染色にて確認した。この後に同系8週齢ラットの左坐骨神経にコラーゲンを包埋した神経前駆細胞を移植し6週および8週飼育した。10週後の標本では神経欠損部位および欠損部位より末梢端において有意に軸索形成が促進されていた。さらにこの再生神経を電気刺激したところ活動電位を認めた。この神経活動電位の遅延時間は正常神経と比べてほぼ同等であったが、振幅は約3分の1であった。これらの結果より神経欠損部位に

において移植された神経前駆細胞は神経修復を促進することが明らかになった。

#### 4. Targeted gene delivery to human osteosarcoma cells with magnetic cationic liposomes under a magnetic field

(外部磁場と磁性体カチオニックリポソームによるヒト骨肉腫細胞に対する遺伝子導入法の改善)

平尾 健

展開医科学専攻病態制御医科学講座(整形外科学)

磁力により集積可能な磁性体カチオニックリポソーム(MCL)を作成し、リポフェクション法による遺伝子導入効率の改善について *in vitro* で検討した。ドイツ中央部に磁石を設置してルシフェラーゼ(luc)遺伝子をヒト骨肉腫細胞に導入し、中央部と辺縁部の luc 活性を測定した。さらにヒト p53 癌抑制遺伝子の導入によるアポトーシス細胞の割合を中央部と辺縁部において比較した。中央部の luc 活性は辺縁部の 2.6 倍と有意に高値であり ( $p < 0.01$ )、磁場のない場合の 3.5 倍と有意に高値であった ( $p < 0.01$ )。またアポトーシス細胞の割合は中央部  $18.9 \pm 2.9\%$ 、辺縁部  $2.4 \pm 0.2\%$  と中央部に有意に抗腫瘍効果を示していた ( $p < 0.05$ )。外部磁場と MCL によるシステムは、ウイルスベクターによらない新しい遺伝子導入技術の可能性が示唆され、将来の悪性骨・軟部腫瘍における臨床応用が期待される。

#### 5. A morphometric study on postnatal development of the external granular layer of mice cerebella, focusing on local difference

(マウス小脳の生後発達:外果粒層にみられる発達の部位差)

山崎 せつ子

創生医科学専攻病態探究医科学講座(解剖学および発生生物学)

周生期マウスの小脳にみられる外果粒層は、正中面に部位差を呈するが、この差の詳細は記述されていない。本研究の目的はマウス小脳外果粒層の厚さを、層が消失する生後22日齢までの期間、正中面全体を対象として明らかにすることである。Jel: ICR マウスを用い、生後1日から3日毎に小脳を光学顕微鏡で観察した。各葉内で最も厚い部位は、発達初期では裂深部に面する部位、発達後期では層の凹部、最も薄い部位は、発達期を通じて小脳表面に面する部位であった。平均的な厚さを示す部位は裂面に面する直線部であった。葉

全体は、早期発達群(前葉と第VI葉吻側)、混合群(第VIII, IX葉対面部)、後期発達群(第VI葉吻側、混合群を除く後葉)に分けられた。混合群の発達は、分裂域においては早期発達群と、移動前域においては後期発達群と同傾向を示した。外果粒層の発達に関しては、部位差を十分考慮した観察部位の選択・特定が重要であることが示唆された。

#### 6. Effect of forced running stress on behavior and on brain serotonin system in rats

(ラットの脳内セロトニンシステム及び行動への強制走行ストレスの作用)

佐々木 康史

創生医科学専攻先進医療開発科学講座(精神神経医科学)

10日間の強制走行ストレスを雌性ラットに加え、その前後、行動を含めた生理学的変化を観察した。強制走行により体温低下、副腎重量の増加、性周期の消失、自発運動量の減少が認められた。10日間の強制走行ストレス後の脳内では、5-HT 含量に変化はないが前頭皮質、中脳、橋において 5-HIAA, 5-HIAA/5-HT の値が増加していた。また 5-HT 合成の指標である NSD-1015 投与後の 5-HTP 量はストレス後、中脳、橋において増加していた。前頭皮質での 5-HT<sub>2A</sub> 受容体結合能は強制走行による変化はなかった。行動観察から10日間の強制走行ストレス後のラットはうつ病発症準備状態に相当すると考えられたが、うつ病発症準備状態のとき 5-HT は代謝亢進していることがわかった。

#### 7. Fluorescent-based BAT-26 analysis for distinct screening of microsatellite instability in colorectal cancers

(大腸癌における BAT-26 蛍光プライマーを用いた遺伝子不安定性のスクリーニング法の確立)

森 藤 雅彦

展開医科学専攻病態制御医科学講座(外科学)

【目的】大腸癌における MSI 検出マーカーとして BAT-26 の有用性を検討し、正常細胞が混入している臨床検体におけるマイクロサテライトマーカーによる LOH の結果から MSI との鑑別上の問題点を考察した。

【結果】BAT-26 の MSI は 8 例 (4.8%) で、最小 4 塩基から最大 12 塩基短くなるピークシフトであり、すべて MSI-H であった。mononucleotide repeat における 1 塩基のピークシフトは、LOH に伴う変化を含