

で四分した糖尿病発症のハザード比は、最低値群に対し最高値群は男性で2.84 (95%信頼区間 1.09-7.39)、女性で3.11 (1.09-7.39) と有意な上昇であった。また男女とも四分値の上昇につれてハザード比が上昇する有意な正のトレンドを認めた。

【結語】 日系人において hsCRP の高値は糖尿病発症の危険因子と考えられた。また糖尿病発症の病態生理に炎症が関与している可能性が示唆された。

#### 4. Determination of total homocysteine in dried blood spots using high performance liquid chromatography for homocystinuria newborn screening

(ホモシスチン尿症新生児スクリーニングに対する HPLC 法による濾紙血中の総ホモシステイン濃度の測定)

Andi Dwi Bahagia Febriani

展開医科学専攻病態情報医科学講座(小児科学)

【背景】 ホモシスチン尿症に対する現行のスクリーニングはガスリー法でメチオニンを測定することで実施されているが、メチオニン非上昇例の見逃しなどの問題が指摘されている。そこで、見逃しが最も少ない検査対象として考えられているホモシステインに注目し、HPLC を用いて乾燥血液濾紙 (DBS) 中のホモシステインを測定する方法を開発し、新生児マススクリーニングに応用を試みた。

【方法】 3 mm の DBS を抽出液中で10分超音波処理し、その抽出液を dithioerythritol で還元後、4-aminosulfonyl-7fluoro-2, 1, 3-benzoxadiazole でホモシステインを蛍光化し、HPLC で測定した。

【結果】 本方法によれば、DBS と血清の tHcy 濃度の間には良好な直線性 ( $r=0.996$ ) と十分な精度 (変動係数範囲 2.7-5%) を示し、さらに、対照群と患者の検体の双方で、DBS と血清の濃度は有意の相関を示した (対照  $r=0.932$ , 患者  $r=0.952$ )。7日間の室温および4℃保存で DBS 中 Hcy 濃度は、統計学的に有意の低下を示さなかった ( $p>0.05$ )。早期産児、満期産児、正常成人の DBS 中のホモシステインは各々  $1.4\pm 1.0$ ,  $2.5\pm 1.6$ ,  $4.9\pm 1.5$   $\mu\text{M}$  であった。2例の cystathionine- $\beta$ -synthase 欠損症はそれぞれ  $22.7\pm 2.88$ ,  $29.3\pm 1.90$   $\mu\text{M}$ , また1例の 5, 10-methylentetrahydrofolatereductase 欠損症は  $41.3$   $\mu\text{M}$ , と明らかな高値をしめした。

【結論】 ホモシステインを測定する本方法は一検体

あたりの測定時間も短く、信頼性も高く、メチオニンを測定する現行法に代わるべき方法と考える。

#### 5. The ligands of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma inhibit growth of human esophageal carcinoma cells through induction of apoptosis and cell cycle arrest.

(食道癌細胞株を用いた PPAR gamma ligand 投与におけるアポトーシスの誘導と細胞周期停止による抗腫瘍効果に関する検討)

藤井大輔

原爆放射線医科学研究所 (腫瘍外科)

【方法】 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\gamma$  リガンドである Troglitazone による抗腫瘍効果とその作用機序の検討を食道癌細胞株 TE1. 3. 7. 8. 12. 13 を用いて行った。

【結果】 Troglitazone には TE7. 8. 12. 13 が time and dose dependent に抗腫瘍効果を認めたが PPAR  $\gamma$  蛋白の発現とは相関しなかった。作用機序の検討を行ったところ、G1期細胞の増加も認められ、蛋白発現において P27 などの増強や CyclinD の減少も認められた。更にアポトーシスの誘導も確認され、経時的にアポトーシス関連蛋白発現の増加が認められた。

【総括】 PPAR  $\gamma$  リガンドは食道癌細胞株に対して抗腫瘍効果を有し、その機序として細胞増殖の抑制と同時にアポトーシスの誘導による可能性が示唆された。

#### 6. Accumulation of $\beta$ -catenin protein and mutations in exon 3 of $\beta$ -catenin gene in gastrointestinal carcinoid tumor

(消化管カルチノイド腫瘍における  $\beta$ -catenin の蓄積と  $\beta$ -catenin 遺伝子の変異)

藤森正彦

創生医科学専攻先進医療開発科学講座(外科学)

消化管カルチノイド 72例を対象とし、カルチノイドにおける Wnt シグナル伝達経路異常の解析を行った。 $\beta$ -catenin, cyclin D1 の免疫染色と  $\beta$ -catenin, APC 遺伝子のダイレクトシーケンスを行った。 $\beta$ -catenin 免疫染色では、57症例 (79.2%) が陽性で、cyclin D1 免疫染色は61症例 (84.7%) が陽性であった。 $\beta$ -catenin 遺伝子異常は27症例 (37.5%) に認め、

その内の26症例 (96.3%) がコドン37のセリンがアラニンに変異 (S37A) するものであった。APC 遺伝子の異常は1症例 (1.3%) にも認められた。臨床病理学的因子と比較検討したが  $\beta$ -catenin 遺伝子異常との間に相関を認めなかった。0.1cm の小さな腫瘍で  $\beta$ -catenin 遺伝子の異常を認めることから消化管カルチノイドの発生初期から Wnt シグナル伝達経路の異常が関与する可能性が示唆された。

#### 7. Identification of rare polymerase variants of hepatitis B virus using two-stage PCR with peptide nucleic acid clamping

(ペプチド核酸を用いた2段階ポリメラーゼ連鎖反応法によるB型肝炎ウイルスの稀なポリメラーゼ変異株の同定)

大石和佳

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)

Lamivudine は、B型肝炎ウイルス (HBV) に対して強力な抗ウイルス効果を有するが、長期投与により薬剤耐性の YMDD mutant が出現し、breakthrough が起きることが問題である。近年、lamivudine 非投与例においても YMDD mutant を有する症例の報告があることから、lamivudine 非投与例において、YMDD mutant が存在するか否かについて検討した。peptide nucleic acid (PNA) を用いることで、YMDD mutant の検出感度を従来法の10<sup>4</sup>倍に上昇させることを可能にした。lamivudine 投与前1例でのみ YMDD mutant 陽性例が存在したが、検出率は1/62例 (1.6%) と低率であった。YMDD mutant が検出された1例の検討で、YIDD, YRDD など種々の YMDD mutant を確認した。特に、YIDD は通常の配列と異なり、S領域に stop codon を有していた。他4例についても同様の検討を行ったが、YIDD をはじめとする種々の YMDD mutant を確認した。PNA を用いた YMDD mutant の検討は、HBV の薬剤耐性獲得のメカニズムや quasi-species を理解する上で、有用であると思われる。

#### 8. Construction of ectopic xenogeneic bone marrow structure associated with persistent multi-lineage mixed chimerism by engraftment of rat bone marrow plugs into mouse kidney capsules.

(腎皮膜下骨髄間質環境の構築による恒久的多系統異種骨髄キメリズム導入の試み)

原 秀 孝

創生医科学専攻先進医療開発科学講座(外科学)

放射線照射骨髄移植によるミックスドキメリズムの導入は、古典的な方法ではあるが移植抗原に対して寛容を誘導する最も確実な方法で、同種移植のみならず異種移植においてもTおよびB細胞免疫寛容の誘導が可能となる。しかしながら異種骨髄移植では恒久的キメリズムを維持することは困難である。その一因に宿主骨髄間質細胞の異種造血幹細胞に対する増殖分化支持能が宿主の造血幹細胞に対するそれに比べ低い可能性が挙げられる。そこで我々は mouse (CB-17 scid) の腎皮膜下に rat (F344 *rmu/rmu*) の間質細胞を含む骨髄組織片を移植した。移植10週後に腎皮膜下の骨髄間質組織の構築が組織学的に確認され、70%程度の異種キメリズムが維持されていた。この結果は、腎皮膜下骨髄間質環境の構築により恒久的異種造血キメリズムが導入され免疫寛容が誘導される可能性を示唆する。

#### 9. ST-Segment Elevation and Ventricular Fibrillation without Coronary Spasm by Intracoronary Injection of Acetylcholine and/or Ergonovine Maleate in Patients with Brugada syndrome

(ブルガダ症候群患者におけるアセチルコリンまたはエルゴメトリンの冠動脈注入時の冠攣縮なしでのST上昇および心室細動の誘発)

野 田 崇

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)

【背景】ブルガダ症候群 (B群) では V1-V3 誘導心電図 (ECG) の ST 上昇と心室細動 (VF) を認め、エルゴメトリン (EM) またはアセチルコリン (ACH) の冠動脈注入は、虚血あるいは副交感神経の直接刺激にて、B群の ST 上昇を増強させることが予想される。

【方法】B群27例と対照群30例を対象とし、右冠動脈への EM または ACH 注入時の冠攣縮の頻度および ECG 変化と VF 誘発頻度を観察した。

【結果】B群では、冠攣縮は3例 (11%) に誘発された。EM により22投与中5投与 (23%)、ACH により11投与中6投与 (55%) で ST 上昇が増強し、それぞれ1投与 (5%)、2例 (18%) で VF が誘発されたのに対して、対照群では ST 増高、VF とも1例も認めなかった。