

第506回 広島大学医学集談会：発表無し

第17回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成19年2月1日）

——学位論文抄録——

1. Enhanced reactivity and delayed recovery of sensorimotor cortex in the novelty seeking personality

（新奇性追求性格傾向における運動感覚野の反応性亢進と回復遅延）

志々田一宏
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（精神神経医科学）

ヒトの性格としての新奇性追求（Novelty seeking: NS）傾向に、大脳皮質の反応性亢進、抑制機能低下が関係していると仮定されている。一方、体性感覚刺激後に運動感覚野に生じる $\alpha \cdot \beta$ 帯域の電氣的振動の減衰（event-related desynchronization: ERD）と増加（event-related synchronization: ERS）は、それぞれ大脳皮質の活動および回復過程を反映する。今回、脳磁図を用いてNSと運動感覚野の電気振動変化の関連を調べた。48人の健常者から質問紙を用いて抽出した、高NS群と低NS群各14人に、正中神経の電気刺激を行い、脳磁場を記録した。高NS群は低NS群よりも、 β 帯域においてERDの程度が大きく、 $\alpha \cdot \beta$ 帯域におけるERS潜時が長かった。NS傾向に運動感覚野の反応性亢進と回復遅延が関与することが示唆された。

2. Single prolonged stress increases contextual freezing and the expression of glycine transporter 1 and vesicle-associated membrane protein 2 mRNA in the hippocampus of rats

（シングルプロロングドストレスはラットの文脈恐怖を亢進させ、海馬でのグリシントランスポーター1とVAMP2 mRNAの発現を増加させる）

岩本 泰行
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（精神神経医科学）

外傷後ストレス障害（PTSD）の不安・恐怖行動亢進の機序を探索する目的で、single prolonged stress（SPS）負荷SDラットの恐怖条件付け試験によるすくみ反応亢進のメカニズムを、cDNA Microarray および real-time quantitative PCR（RT-PCR）法を用いて、海馬での遺伝子発現の変化を検討した。その結果、glycine transporter 1（Gly-T1）と vesicle-associated membrane protein 2（VAMP2）mRNA 発現が SPS 負荷ラットで有意に増加していた。この2つの遺伝子発現の増加は、増大した不安反応によりグリシンを含む神経伝達物質が過剰に放出した結果の反応と考えられ、恐怖記憶の消去の障害の機序に、Gly-T1 mRNA 発現の増加が関与している可能性も考えられた。

3. A polymorphism of LOC387715 gene is associated with age-related macular degeneration in the Japanese population

（LOC387715遺伝子多型は日本人の加齢黄斑変性症患者に関連する）

谷本 誠治
創生医科学専攻先進医療開発科学講座（視覚病態学）

加齢黄斑変性症（AMD）の遺伝的な原因の一つに白人では LOC387715 遺伝子多型が関連することが報告されている。日本人における AMD とこの遺伝子多型の関連性を明らかにするために AMD 患者95人と AMD のない患者99人について末梢血から抽出した genomic DNA を用いて一塩基変異多型（SNP）の解析を行った。その結果、LOC387715 遺伝子領域の SNP rs10490924 により生じた塩基の変化（G→T）による TT ホモ接合体の頻度と GG ホモ接合体・GT ヘテロ接合体の頻度には有意な差があり、オッズ比は6.20（95% CI: 2.87, 13.40）と高値であった。日本人の AMD に強い関連性のある遺伝子多型として初めて同定された LOC387715 遺伝子多型の解析は、日本人 AMD 患者の特徴の解明に繋がると思われる。

4. Carvedilol improves endothelium-dependent vasodilation in patients with dilated cardiomyopathy

(カルベジロールは拡張型心筋症 (Dilated Cardiomyopathy: DCM) の血管内皮機能を改善する)

西岡 健司

創生医学専攻探索医学講座 (心臓血管生理医学)

対象は、DCM 15例で、カルベジロール投与群 8例、カルベジロール非投与群 7例とした。カルベジロール投与群は投与前、投与後 4週で血管内皮機能を評価し、コントロール群は経過観察中の 2点で評価した。血管内皮機能評価は、内皮依存性血管拡張物質であるアセチルコリンと、内皮非依存性血管拡張物質であるニトロプルシッドに対する前腕血流量 (forearm blood flow: FBF) の反応をプレチスモグラフィ法で測定した。カルベジロール投与は ACh に対する FBF の反応を $7.2 \pm 3.7 \text{ mL/min/100 mL tissue}$ から $13.4 \pm 5.0 \text{ mL/min/100 mL tissue}$ ($p < 0.05$) へと有意に改善した。また、カルベジロール投与前後で SNP に対する FBF の反応は同等であった。NO 合成酵素阻害薬投与は、カルベジロール投与による ACh に対する FBF の反応の増強を消失させた。コントロール群においては ACh, SNP に対する FBF の反応は、経過観察期間の前後で同等であった。カルベジロールは DCM の血管内皮機能を NO 産生増加を介して改善させた。

5. Overproduction of collagen and diminished SOCS1 expression are causally linked in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis

(特発性間質性肺炎由来線維芽細胞からのコラーゲン過剰産生は SOCS1 の発現低下と因果関係がある)

庄田 浩康

展開医学専攻病態制御医学講座 (分子内科学)

【背景】Th2 サイトカインである IL-4 は線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生を促進し、特発性肺線維症 (IPF) は Th2 優位の病態であると考えられている。Th1 サイトカインである IFN- γ は抗線維化作用を有することが示されている。IFN- γ によるコラーゲン産生抑制機序に SOCS1 が関すると仮定し検討を行った。

【方法】正常および IPF 由来肺線維芽細胞の I 型コラーゲン産生量および SOCS1 発現量を比較し、さらに

野生型および SOCS1 欠損マウス線維芽細胞からのコラーゲン産生量も検討した。

【結果と考察】① IPF 由来線維芽細胞では I 型コラーゲン産生が正常線維芽細胞に比較して増加していたが、SOCS1 の発現低下が関与しているものと考えられた。② IFN- γ の抗線維化作用は SOCS1 依存性の作用と非依存性のものが存在する。③ IPF 由来線維芽細胞では正常肺由来線維芽細胞に比べ IFN- γ 刺激による SOCS1 の増加率が高く、コラーゲン産生抑制率が大きいことより、IPF 患者の線維芽細胞では IFN- γ の抗線維化作用はより強い可能性が考えられた。

6. Rho-associated kinase inhibitor reduces tumor recurrence after liver transplantation in a rat hepatoma model

(Rho 関連キナーゼ阻害剤はラット肝腫瘍モデルにおいて肝移植後の腫瘍再発を減少させる)

小川 尚之

創生医学専攻先進医療開発科学講座 (外科学)

肝臓に対する肝移植後の肝臓再発に関する制御法を ROCK 阻害剤 (Y-27632) に着目し考案する。

【方法】タクロリムス、ROCK 阻害剤投与による癌細胞の遊走能に対する影響を検討し、Rho/ROCK シグナルの活性化に関してミオシン L 鎖の燐酸化レベルを検討した。ラット肝細胞癌肝移植モデルを用いてタクロリムス投与群とタクロリムス・ROCK 阻害剤併用投与群とに分け、生存日数を確認した。

【結果】癌細胞の遊走能はタクロリムス投与により亢進し、ROCK 阻害剤併用投与により遊抑制された。ミオシン L 鎖の燐酸化レベルはタクロリムス投与群で増加し、ROCK 阻害剤併用投与群で減少した。タクロリムス・ROCK 阻害剤併用投与群は自然経過群、タクロリムス単独投与群に比べ、生存日数の有意な延長が認められた。

【まとめ】タクロリムスは Rho/ROCK シグナルを介して癌細胞の浸潤能を亢進させ、ROCK 阻害剤は肝細胞癌に対する肝移植後の癌再発・転移を抑制することが示唆された。

7. Magnetic targeting of bone marrow stromal cells into spinal cord: through cerebrospinal fluid

(経脳脊髄液内骨髄間葉系幹細胞投与による脊髄への磁気ターゲティング)

西田 幸司

展開医科学専攻病態制御医科学講座（整形外科学）

脊髄損傷に対する骨髄間葉系幹細胞（以下 BMSCs）移植治療の有効性が報告されている。経脳脊髄液内投与（以下 TCSF）は安全で簡便な投与方法として注目されているが脊髄直接投与に比べ移植効率が悪いことが危惧される。そこで我々は磁気ターゲティングにより TCSF において BMSCs を有効に集積させることが可能であるかを試みた。SD ラットの第 7 胸椎椎弓切除後、背側筋肉内に磁石群は磁石を、対照群は同一素材の無着磁金属を留置した。GFP ラット骨髄より採取、継代した BMSCs をあらかじめ磁気ビーズと反応させ移植細胞とし、腰椎より脳脊髄液内に投与した。24 時間後、脊髄の矢状断切片を作製し評価した。磁石群では対照群に比べ有意に多くの GFP 陽性細胞の集積を認めた。これにより磁気ターゲティングにより BMSCs を脊髄局所へ有効に集積させることが可能であることが判明した。TCSF における BMSCs の磁気ターゲティングは脊髄損傷に対する有用な治療法となる可能性がある。

8. GSK-3 β -regulated interaction of BICD with dynein is involved in microtubule anchorage at centrosome

（GSK-3 β による BICD-ダイニンの相互作用が中心体への微小管の結合に関与している）

麓 勝己

創生医科学専攻探索医科学講座（分子細胞情報学）

Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) は多く蛋白質をリン酸化し、細胞の増殖や分化等多岐にわたる細胞機能を制御している。私共は siRNA を用いて GSK-3 β を knockdown (KD) し、微小管の配向に対する影響を解析し、GSK-3 β が中心体と微小管との結合に関与することを見出した。その分子機構を明らかにするため、GSK-3 β 結合蛋白質を検索し、ダイニンと複合体を形成する Bicaudal-D (BICD) を同定した。GSK-3 β は BICD と直接結合し、BICD をリン酸化した。GSK-3 β の KD によりダイニンと BICD との複合体形成が阻害された。そこで BICD-ダイニン融合蛋白質を作製し、GSK-3 β KD 細胞で発現させると、中心体から解離した微小管が再結合した。以上より GSK-3 β は BICD をリン酸化し BICD-ダイニン複合体安定化して微小管を中心体に結合することが考えられた。

9. Inhibitory effect of a water-soluble extract from the culture medium of *Ganoderma lucidum* (Reishi) mycelia on the development of pulmonary adenocarcinoma induced by N-nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine in Wistar rats.

（N-nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine によって Wistar ラットに誘発される肺腺がんの発生に対する *Ganoderma lucidum*（靈芝）菌糸体培養基水溶性抽出物の抑制効果）

榎本 尚樹

創生医科学専攻病態探究医科学講座
（分子発がん制御研究分野）

靈芝は、中国や日本で様々な薬効を持つものとして伝承的に使用されてきた。本研究では、N-nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine (BHP) で誘発したラット肺腺がんに対する靈芝菌糸体培養基水溶性抽出物 (MAK) の抑制効果について検討した。MAK は、培養基に菌糸体を接種、培養、発酵後に抽出して作製した。肺腫瘍は、ラットに 0.2% BHP を 10 週間投与して誘発した。BHP 投与終了後、飼料に濃度の異なる MAK を混じて 12 週間与えた。摘出した肺は、肉眼的観察、病理組織学的解析および免疫組織学的解析 (β -カテニン、COX-1, -2, PCNA) を行った。その結果 MAK は、肺結節と肺腫瘍の径と数を減少させた。また、PCNA 強陽性腫瘍数を減少させ、陰性腫瘍数を増加させた。以上のことから、MAK は腫瘍発生を抑制するメカニズムの 1 つとして、腫瘍細胞の増殖抑制効果を有することが示唆された。

10. Antibody- and complement-independent phagocytotic and cytolytic activities of human macrophages toward porcine cells

（ブタ細胞に対するヒトマクロファージの抗体補体非依存性貪食・細胞傷害活性）

井手 健太郎

創生医科学専攻先進医療開発科学講座（外科学）

臓器移植ドナー不足の究極的解決策として、ブタを用いた異種移植に期待が寄せられている。我々は遅延型異種移植反応に関わるマクロファージ性傷害機構を解明するため、ヒトマクロファージを用い、貪食能、細胞傷害能を解析した。その結果、ヒトマクロファージは抗体補体非存在下でブタ細胞に対し強い貪食能、

細胞傷害能を持ち、それらは α Gal 抗原非依存性であることを解明した。これは α Gal ノックアウトブタを用いても異種移植において、マクロファージ性傷害機構の制御が必須であることを示唆した。またブタ-ヒト間 CD47-SIRP α 系シグナル伝達の不応性を証明し、ヒト CD47 を遺伝子導入によりブタ細胞上に発現させることにより、マクロファージ性傷害を減弱できることを証明した。

この結果は宿主の生体防御機構に影響を与えることなくマクロファージ性拒絶を制御し得る方法として、今後の異種移植の臨床導入に大きく貢献できると考えられる。

11. Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion

(Wnt-5a の発現は、細胞運動・浸潤を促進することにより胃癌悪性度と相関する)

倉吉 学

創生医科学専攻探索医科学講座 (分子細胞情報学)

Wnt シグナル伝達経路は β -カテニン経路と β -カテニン非依存性経路に大別される。Wnt-5a は、 β -カテニン非依存性経路を制御するが、ヒト癌における Wnt-5a の機能については不明な点が多い。そこで本研究では、胃癌と Wnt-5a シグナルの関連について解析をおこなった。ヒト胃癌検体に対する Wnt-5a 抗体免疫組織染色を用いた臨床病理学的検討から、Wnt-5a の発現と胃癌悪性度 (臨床病期、予後) との間に、正の相関性を認めた。また、胃癌細胞株において、Wnt-5a は、細胞増殖には影響を与えず、FAK, paxillin などの接着斑構成分子の制御を介して、細胞運動能・浸潤能を亢進した。これらの結果より、Wnt-5a の発現により、胃癌の浸潤能、転移能が亢進し、臨床病期、予後の悪化につながる事が示唆される。したがって、胃癌において Wnt-5a は、有用な予後因子、治療標的分子となりうると考えられた。

12. Histological evaluation of osteochondral loose bodies and repaired tissues after fixation

(骨軟骨遊離体と修復固定後の組織学的評価)

當天 賢子

展開医科学専攻病態制御医科学講座 (整形外科学)

【目的】 兎膝を用いて長期遊離体修復固定モデルを作製し、関節軟骨が再生する可能性を評価した。

【方法】 実験 1：兎大腿骨膝蓋溝から骨軟骨片を切除し、関節包内に放置して遊離体とし、直後、3 週、6 週、12 週後に採取して組織染色、免疫組織化学染色を行った。実験 2：実験 1 と同様に 3 週、6 週、12 週遊離体を作成し、これらを軟骨欠損部に修復固定し、12 週後に再生組織を採取し、組織染色、免疫組織化学染色を行った。また骨軟骨片切除後 24 週放置群も作成した。

【結果】 実験 1：遊離期間が長いほど軟骨の状態が悪化した。実験 2：遊離体修復固定モデルでも、長期遊離体を修復固定したものでは、再生組織の状態は不良であった。しかし、24 週放置群と比較すると有意に軟骨の再生が認められた。

【考察】 長期遊離体修復固定モデルからも硝子軟骨の再生の可能性を示した。遊離体を修復固定することは関節軟骨骨折や離断性骨軟骨炎の治療に効果的である。

13. Reduced expression of heme oxygenase-1 in patients with coronary atherosclerosis

(冠動脈疾患患者におけるヘムオキシゲネース (HO)-1 発現能の低下)

Andrey Brydun

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)

ヘムオキシゲネース (HO)-1 はストレス誘導型酵素であり、細胞内のヘムをスカベンジャー作用があるビリルビンと抗炎症作用がある一酸化炭素に分解する酵素である。HO-1 の誘導は細胞にそなわる抗ストレス防御機構と考えられている。本研究では HO-1 発現能と遺伝子多型および冠動脈疾患の関連を検討した。結果としては、S 型遺伝子を有する場合、HO-1 発現量はこれを有さない場合に比較して有意高値であった。即ち、L 遺伝子型の存在が HO-1 発現低下と関連することが明らかになった。HO-1 mRNA 発現量は冠動脈スコアと有意に逆相関した。冠動脈スコアに対する寄与を多変量解析したところ、糖尿病の存在と HO-1 mRNA 発現量のみが冠動脈スコアの有意な説明因子であった。

以上より、HO-1 の発現誘導能の少なくとも一部は遺伝子多型により規定され、HO-1 誘導能の低下は冠動脈硬化と冠動脈疾患に直接関連があることが明らかになった。

14. Tumor induction by azoxymethane (AOM) and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) in F344 rat gastric mucosa featuring intestinal metaplasia caused by x-irradiation

(X線照射により F344 ラットに誘発した腸上皮化生をもつ胃からのアゾキシメタン (AOM) と2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ [4,5-b] ピリジン (PhIP) による発癌)

柏原 昌次
創生医科学専攻病態探究医科学講座
(分子発がん制御研究分野)

胃にX線照射し腸上皮化生を誘発したラットに大腸発癌剤を用い、腸上皮化生を持つ胃からの腫瘍誘発を検討した。実験開始時5週齢の雄 F344/DuCrj ラットを用い、X線は胃部に10 Gyを3日間隔で2回照射、照射開始から4ヶ月目にPhIP (75 mg/kg, 10回) 並びにAOM (15 mg/kg, 3回) を投与した。X線+PhIP群, X線+AOM群, X線群, PhIP群, AOM群, および無処置対照群の6群とした。大腸発癌剤投与群では大腸に腫瘍が発生した。胃における腫瘍の発生は、X線+PhIP群で25例中4例 (16%, 異型過形成3例, 高分化腺癌1例), X線+AOM群で29例中4例 (14%, 異型過形成1例, 印環細胞癌1例, 高分化腺癌2例) に観察された。しかしPhIP群およびAOM単独群では、胃に腫瘍は認めなかった。以上より、AOM, PhIP などの大腸発癌剤により腸上皮化生から胃部に腫瘍が誘発される事が示唆された。

15. G-CSF-induced evacuation of sinusoidal NK cells and the facilitation of liver regeneration in a partial hepatectomy

(G-CSF は肝部分切除時、類洞内 NK 細胞の排出を誘導し肝再生を促進する)

大石 幸一
創生医科学専攻先進医療開発科学講座 (外科学)

肝切除後の肝再生はヒト・組み換え顆粒球コロニー刺激因子 (rhG-CSF) の投与により促進することは知

られているが、機序は解明されていない。今回我々は rhG-CSF の肝再生へ及ぼす機序について調べた。

ラットに rhG-CSF (125 μg/kg) を5日間皮下投与後、70%肝切除を行い、肝内の DNA 合成速度やサイトカインの発現と残存肝や末梢血の NK 細胞の動態を調べた。

rhG-CSF の投与により肝切除後の血清 ALT の上昇が抑制され、残肝内の DNA 合成の上昇を認めた。また肝臓内の NK 細胞が減少し末梢血中の NK 細胞が増加した。IL-12p35 と IFN-γ は肝切除後、転写レベルは低下し、rhG-CSF 投与によりさらに抑制された。蛋白レベルでも rhG-CSF 投与により IL-12p70 と IFN-γ の低下を認めた。

肝再生の促進は肝内の IL-12 の低下と肝類洞内 NK 細胞の減少によりもたらされると示唆される。

16. The SPR signal in living cell reflects the changes other than the area of adhesion and the formation of cell constructions.

(生細胞の刺激応答による SPR シグナルの変化は細胞の付着面積と形態以外の変化を反映する)

柳瀬 雄輝
創生医科学専攻探索医科学講座 (皮膚科学)

表面プラズモン共鳴 (SPR) に基づくセンサーはセンサー表面上数百 nm 内の屈折率変化を感度良くリアルタイムに観察することができる検出装置である。これまで本研究室では、SPR を利用することで生細胞の活動をリアルタイム・無侵襲的に検出できることを見出し、さらにこの方法を用いることで従来の方法では検出し得なかった細胞の応答をも検出できることを明らかにしてきた。しかしながら、刺激によって引き起こされる共鳴角変化が細胞のどのような変化に由来しているのかほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、共鳴角変化に大きな影響を与えることが予想される顕微鏡レベルの細胞形態変化に注目し、これらの反応と共鳴角の変化の関係について検討した。その結果、細胞応答を反映する共鳴角の変化には、接着面積変化などの変化の影響は小さく、より微細な構造変化、または細胞内情報伝達分子の動きが大きく反映されていることが示唆された。