

した。結果は、腫瘍径が大きいものは有意に ($p < 0.04$) 早期に造影され、超早期に造影される腫瘍は5例中3例で性状は fibrous であった ($p < 0.018$)。Fibrous な性状を持つ腺腫が必ずしも早期造影されるわけではなかったが、線維成分の多寡が早期造影効果に関わっている可能性が示唆され、dynamic MRI による造影パターンの違いは、術前腫瘍の性状を知る手がかりになり得ることが判明した。

20. 肩腱板の修復機転に関する実験的研究

—修復における滑膜の役割について—

菊川 和彦 (整形外科学)

肩腱板の修復機転に滑膜がおよぼす影響について検討した。実験1: ヒト腱板組織を用い、欠損のみ作成した F 群、欠損部を腱板で充填した R 群、欠損部を滑膜で充填した S 群を作成し、器官培養を行った。培養1, 2, 4週で組織学的に評価し、I型プロコラーゲンの発現を観察した。S群では滑膜組織と腱板組織が癒合し、I型プロコラーゲンはF群、R群より強く発現していた。実験2: ラット腱板に欠損のみ作成した D 群、欠損部に滑膜組織を移植した G 群を作成した。術後1, 2, 4, 8週で組織学的に評価し、PCNA 陽性細胞、I型、III型プロコラーゲン mRNA の発現を観察した。腱成熟点数、PCNA 陽性細胞率は D 群より G 群が高値を示し、I型、III型プロコラーゲン mRNA の発現は D 群は滑膜組織が隣接する腱板表層の滑液包側と関節側に、G 群は滑膜組織に隣接する腱板全体に認められた。本研究より、滑膜が腱板の修復機転に有効に作用することが示唆された。

21. α -helix 2 in the amino-terminal Mad homology 1 domain is responsible for specific DNA binding of Smad3

(Smad3 の DNA 結合特異性における Mad homology 1 領域内の α -helix 2 構造の重要性)

草 薙 聖 (眼科学)

TGF- β , activin, 骨形成因子 (以下 BMP) などによって構成される TGF- β スーパーファミリーの細胞内シグナルは、Smad によって伝達される。哺乳類で同定されている Smad1 から Smad8 までの8種類の Smad のうち、Smad2/3 は TGF- β /activin のシグナルを、Smad1/5/8 は BMP のシグナルを特異的に伝える。受容体によって活性化された Smad が、核内で Mad homology 1 (MH1) 領域を介して DNA に結合する際、Smad3 と Smad1 はそれぞれに特異的な塩基配列を認識、結合する。本研究では、Smad1/Smad3 キメラ蛋

白を用いて、ゲルシフトアッセイおよびルシフェラーゼアッセイを行い、Smad の DNA 結合特異性に関する構造解析を試みた。その結果、Smad3 の DNA 結合特異性には、MH1 領域内の α -helix 2 構造が重要であることが示唆された。

22. In situ localization of nitric oxide synthase and direct evidence of NO production in rat retinal ganglion cells

(ラット網膜神経節細胞における一酸化窒素合成酵素の局在と一酸化窒素合成の検討)

津間本 裕一 (眼科学)

【目的】胎生後期および生後のシナプス形成過程にある網膜神経節細胞が NO 合成酵素 (NOS) を発現し、実際に NO を合成しうるかを目的とした。

【方法】胎齢後期、幼若期および成熟期のラット網膜を固定、凍結切片を作成、nNOS, eNOS に対する抗体を用いて免疫組織化学的手法により、その発現について経時的な観察を行った。さらに、NO 蛍光指示薬 DAF-2DA を用いて培養網膜神経節細胞における NO 産生を観察した。

【結果】生後2週間まで網膜神経節細胞に n および eNOS は発現していた。培養神経節細胞においてグルタミン酸刺激により NO 合成が観察された。NOS の非選択的阻害剤及び nNOS の選択的阻害剤によって NO 合成は有意に抑制された。

【考察】発生段階における網膜神経節細胞では神経回路の構築の過程においてグルタミン酸-NO 経路が関与していることが示唆された。またその NO は nNOS によって合成された。

23. Existence of ionotropic glutamate receptor subtypes in cultured rat retinal ganglion cells obtained by magnetic cell sorter method and inhibitory effects of 20-hydroxycyclopropane, a neurosteroid, on the glutamate response

(磁気細胞分離システムで得られた培養ラット網膜神経節細胞におけるイオン型グルタミン酸受容体サブタイプの存在と、20-ヒドロキシシエクジソン (神経ステロイド)によるグルタミン酸反応の抑制効果)

向 井 聖 (眼科学)

磁気細胞分離システム (MACS) で分離後に培養した網膜神経節細胞 (RGC) におけるグルタミン酸受容体サブタイプが発現しているか明らかにするためパッチクランプ法により電気生理学的に研究した。次いで、網膜には神経ステロイドが存在することから、神経ス

テロイドのひとつである20-ヒドロキシエクジソン (20-HE) がグルタミン酸受容体機能に影響するか検討した。RGCは生後4-5日目のウイスター系ラットからMACSで分離後に約1週間培養した。NMDA, AMPA及びkainateは濃度依存性に内向き電流を誘発した。電流-電圧関係は3種ともに Mg^{2+} 非存在下ではほぼ直線となった。 Mg^{2+} 存在下では、NMDA誘発電流は -20 mV より過分極側で抑制された。20-HEは

NMDA誘発電流を有意に抑制した。さらに、AMPA及びkainate誘発電流も20-HEにより軽度抑制された。以上から、MACSにより分離培養したRGCにおいても他の中枢神経系ニューロンと同様の電気生理学的・薬理学的特性を有するグルタミン酸受容体サブタイプが存在することが明らかになった。また、20-HEはNMDA誘発電流を抑制したことから神経保護物質となりうると考えられる。

第462回

広島大学医学集談会

(平成14年5月2日)

—学位論文抄録—

1. Involvement of the zinc-binding capacity of Sendai virus V protein in viral pathogenesis.

(センダイウイルスV蛋白亜鉛結合能のウイルス病原性に対する関与)

黄 誠

(創生医科学専攻・探索医科学講座・ウイルス学)

センダイウイルス (SeV) のV蛋白は、マウス個体でウイルス増殖を促進する機能をもつと考えられる。V蛋白のC端には、この機能に重要なシステインに富んだ亜鉛結合モチーフをもつ特異領域がある。本研究では、まずV特異領域に実際に亜鉛イオンが結合することを明らかにした。また、パラミクソウイルス亜科で完全に保存されている7つのシステイン残基をひとつでも変異させれば亜鉛結合能は半分程度に低下することを示した。さらに、これらの変異のうちV-C₃₄₁S変異とV-C₃₆₅R変異をもつウイルスをそれぞれcDNAから作製して、マウスに感染させてウイルス増殖能・マウスの体重減少を検討したところ、親株ウイルスに比べて弱毒化しており、これらの弱毒化の程度は、V特異領域を欠損させたウイルスとほぼ同じであった。SeVのV蛋白特異領域の亜鉛結合能は、マウスでのウイルス増殖促進と病原性亢進に関与することが明らかになった。

2. Combination of molecular mimicry and aberrant autoantigen expression is important for development of anti-Fas ligand autoantibodies in patients

with SLE

(全身性エリテマトーデスの抗Fasリガンド自己抗体の産生には自己抗原の発現異常と分子擬態が重要である)

三原 祥嗣

(創生医科学専攻・探索医科学講座・皮膚科学)

SLE患者から分離した抗FasL自己抗体によるアポトーシス抑制機序と、抗FasL自己抗体の産生機序について解析を行った。FasL欠失蛋白を用いた抗FasL自己抗体のエピトープマッピング、Fas/FasLの立体構造モデル、1アミノ酸を変異させたFasLによるアポトーシス誘導活性の検討より、抗FasL自己抗体はFasLの活性部位の1つであるFasLアミノ酸162-169を認識し、FasLによるアポトーシスの誘導を抑制していることが示唆された。微生物由来のFasL様ペプチドによる結合抑制実験とSLE患者リンパ球のFasL発現の検討より、SLE患者における抗FasL自己抗体の産生には、FasLと交差反応を示す微生物の感染によりFasL様ペプチドに対する抗体が産生されることが重要で、患者リンパ球が過剰にFasLを発現しているため分子擬態により抗体の交差反応が起こることが重要であると思われた。

3. Effects of anticholinergic drugs on regional cerebral blood flow and memory in schizophrenic patients.

(精神分裂病患者における抗コリン薬の局所脳血流と記憶に及ぼす影響)

森 和彦