

# 平成 22 年度課題研究セミナー

## 夏季プログラム

専攻	大講座	開催日				世話教授
		夏季				
生体制御科学	機能制御学	7/21	水	16時～	臨床第二講義室	氏家 教授
	脳神経制御学 生体薬物制御学	7/29	木	16時～	歯学部第一講義室	北山 教授
病態制御科学	病態機構学	7/23	金	16時20分～	歯学部第一講義室	高柴 教授
	腫瘍制御学	7/16	金	16時～	歯学部第一講義室	浅海 教授
機能再生・再建科学	生体機能再生・再建学	7/28	水	16時～	歯学部第一講義室	滝川 教授
	口腔・顎・顔面機能再生制御学	7/22	木	16時～	歯学部第一講義室	飯田 教授
社会環境生命科学	国際環境科学 長寿・社会医学	7/15	木	16時～	臨床第二講義室	光延 教授

大学院医歯薬学総合研究科博士課程

発表日	発表順	発表開始予定時刻	学生番号	氏名	専攻分野	タイトル	コメンテーター	職名	コメンテーター 専攻分野	ページ
7/15	1	16:00	71419067		衛生学・予防医学	日本の高齢者における運動と死亡リスクの関連性に関するコホート研究	汪 達敏	助教	公衆衛生学	1
7/15	2	16:20	71419069		衛生学・予防医学	結食弁当を原因食品とするSalmonella Braenderupによる食中毒	小熊 恵二	教授	病原細菌学	1
7/16	1	16:00	71420081		疫学・衛生学	Routine Antenatal care visits and neonatal mortality, in Indonesia	汪 達敏	助教	公衆衛生学	2
7/16	2	16:20	71420056		消化器・腫瘍外科学	Establishment of an Immortalized Porcine Liver Cell Line JSNK-1 with Retroviral Transduction of SV40T	山本 和秀	教授	消化器・肝臓内科学	2
7/16	3	16:40	71418106		口腔顎顔面外科学	副甲状腺ホルモン関連タンパク質シグナルを分子標的としたがん骨破壊病変抑制	服部 高子	助教	口腔生化学	3
7/16	4	17:00	71419035		病理・病態学	膀胱上皮内癌におけるP16, P53, pRBの発現とBCG治療におけるマーカーとしての有用性	那須 保友	教授	新医療研究開発センター	3
7/16	5	17:20	71419036		病理学(腫瘍病理/第二病理)	消化管における十二指腸びまん性大細胞型B細胞リンパ腫の臨床病理学的特徴	岡田 裕之	准教授	消化器・肝臓内科学	4
7/16	6	17:40	71420038		病理学(腫瘍病理)	限局期節性びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討	品川 克至	講師	血液・腫瘍・呼吸器内科学	5
7/16	7	18:00	71419034		病理学(腫瘍病理)	Down-regulation of BCR signaling component CD79b in plasma cell myeloma: Potential post-transcriptional mechanism	品川 克至	講師	血液・腫瘍・呼吸器内科学	5
7/16	8	18:20	71420037		病理学(腫瘍病理)	免疫二重染色を使った悪性リンパ腫の軽微免疫グロブリンクロナリテの検出	品川 克至	講師	血液・腫瘍・呼吸器内科学	6
7/16	9	18:40	71421035		免疫学	NY-ESO-1ワクチン患者におけるCD4T細胞の反応解析	松川 昭博	教授	病理学(免疫病理)	6
7/16	10	19:10	71419044		放射線医学	Infusion of hypertonic saline into the lung parenchyma during radiofrequency ablation of the lungs with multined expandable electrodes: results using a porcine model.	堀田 勝幸	助教	血液・腫瘍・呼吸器内科学	7
7/16	11	19:30	71419045		放射線医学	気管支鏡下生検にて診断できなかった肺病変に対するCT選択下生検の検討	堀田 勝幸	助教	血液・腫瘍・呼吸器内科学	7
7/21	1	16:00	71417021		麻酔・蘇生学	ラット出血性モデルによる急性肺傷害に対するCO吸入の治療効果	西堀 正洋	教授	薬理学	8
7/21	2	16:20	71418020		麻酔・蘇生学分野	脳由来神経栄養因子をターゲットにしたデコイ核酸による疼痛治療	二宮 善文	教授	分子医化学	8
7/21	3	16:40	71420005		循環器内科学	先天性QT延長症候群1型, 2型における 再分極相の変動に対するβ遮断薬の効果 -ホルター心電図による検討-	高垣 昌己	助教	心臓血管外科学	9
7/22	1	16:00	71419103		予防歯科学	ラット咬合異常モデルによる顎下腺BDNF発現への影響	原 哲也	准教授	咬合・有床義歯補綴学	10
7/23	1	16:20	71419074		歯周病態学	Smad2による歯肉上皮創傷治癒の速度抑制に関する研究	辻極 秀次	准教授	口腔病理学	11
7/23	2	16:40	71417049		小児医学	小児急性リンパ性白血病における予後不良因子とリン酸化Akt発現との関連について	前田 嘉信	助教	血液・腫瘍内科	12
7/23	3	17:00	89414607		消化器・肝臓内科学	C型肝炎ウイルス感染後のPEG-IFN療法による再発抑制効果	能祖 一裕	准教授	分子肝臓病学講座	12
7/23	4	17:40	89415042		消化器・肝臓内科学	肝細胞癌におけるCTAP/CTHAの臨床的有用性	能祖 一裕	准教授	分子肝臓病学講座	13
7/23	5	18:00	71418038		腎・免疫・内分泌代謝内科学	2型糖尿病患者における血液中単球の活性化状態解析とスタチンの抗炎症効果の検討	西堀 正洋	教授	薬理学	13
7/23	6	18:20	71420081		腎・免疫・内分泌代謝内科学	BMP1による骨芽細胞分化に対するTNF-α及びsteroidの作用機序の検討	増山 寿	准教授	産科・婦人科学	14
7/23	7	18:40	71419037		細胞生物学	Intraperitoneal Administration of an Adenovirus Vector Carrying REIC/Dkk-3 Gene Suppresses Peritoneal Dissemination of Scirrhous Gastric Carcinoma	渡部 昌実	准教授	泌尿器病態学	14
7/23	8	19:00	71420066		細胞生物学	正常皮膚及び増殖性皮膚疾患におけるREIC/Dkk-3の発現解析	白藤 宣紀	助教	皮膚科学	15
7/28	1	16:00	71419094		歯科矯正学	軟骨細胞分化に関わるmiRNAの探索	池亀 美華	准教授	口腔形態学	16
7/28	2	16:20	71419091		歯科矯正学	軟骨特異的CCN2/CTGF過剰発現による加齢に伴う膝関節軟骨変性の抑制	古松 毅之	助教	整形外科	16
7/28	3	16:40	71419054		整形外科	ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤valproic acidによる滑膜肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討	大内田 守	准教授	分子遺伝学	17
7/28	4	17:00	71419052		整形外科	マウスiPS細胞の骨分化誘導における基礎的実験	坂口 政清	准教授	細胞生物学	17
7/28	5	17:30	71418015		耳鼻咽喉・頭頸部外科学	鼻茸分離細胞におけるLPSを介した好酸球性炎症の制御機構	西堀 正洋	教授	薬理学	18
7/28	6	17:50	71418091		整形外科	先天性股関節脱臼後に生じた大腿骨頭壊死に対する治療法とその成績	遠藤 裕介	助教	運動器疾患材料開発(日本メディカルマテリアル)講座	18
7/28	7	18:10	71419050		整形外科	Combination Treatment of bFGF/GDF-5 and Hydrogels Stimulates the Healing of Medial Collateral Ligament Injury	大橋 俊孝	准教授	分子医化学	19
7/28	8	18:30	71419051		整形外科	テロメラーゼ依存性腫瘍融解ウイルス製剤の骨軟部腫瘍への応用(Telomerase-Specific Replication-Selective Virotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcoma)	山田 浩司	講師	生化学	19

発表日	発表順	発表開始予定時刻	学生番号	氏名	専攻分野	タイトル	コメンテーター	職名	コメンテーター 専攻分野	ページ
7/29	1	16:00	07419101		歯科麻酔・特別支援歯学	知的障害者歯科治療時の静脈内鎮静法におけるBispectral Index及びTarget Controlled Infusionの有用性	岡田 裕之	准教授	消化器・肝臓内科学	21
7/29	2	16:20	71418202		脳神経内科学	In vivo and in vitro analyses of t-PA neurotoxicity in rats and protection by edaravone	安原 陸雄	助教	脳神経外科学	21
7/29	3	16:40	71419007		脳神経内科学	Antiapoptotic and autophagic effects of glial cell line-derived neurotrophic factor and hepatocyte growth factor after transient middle cerebral artery occlusion in rats.	北山 滋雄	教授	歯科薬理学	22
7/29	4	17:00	71419011		脳神経外科学	パーキンソン病モデルラットに対する間葉系幹細胞移植の神経保護効果と作用機序	名古屋 章子	助教	神経内科学	22
7/29	5	17:20	71420024		脳神経外科学	パーキンソン病モデルラットにおける尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)の濃化	名古屋 章子	助教	脳神経内科学	23
7/29	6	17:40	71417029		精神神経病態学	早期認知症におけるウィスコンシンカード分類テスト(WCST)と脳血流画像	佐藤 修平	講師	放射線医学	23
7/29	7	18:00	71419001		薬理学	Histamine inhibits advanced glycation end product-induced adhesion molecule expression on monocytes during human mixed lymphocyte reaction	吉野 正	教授	病理学(腫瘍病理)	24

発表日 7/15 時間 4:00 PM

タイトル 日本の高齢者における運動と死亡リスクの関連性に関するコホート研究  
専攻分野 衛生学・予防医学 学生番号 71419067 発表者 ○○ ○○

【緒言】疾患を有する老人に対して推奨する運動の種類と頻度に関する十分な知見は得られていない。本研究では、複数の運動の種類(歩行、運動、体を動かす作業)に関する頻度の情報を得て、死因別死亡リスクを推定した。

【方法】対象者として静岡市の65-84歳の老人22200人をランダムに選択し、最終的に10385人を解析対象とした。1999年から2006年にかけての死亡を追跡した。共変量で調整した全死因死亡、心血管系疾患(以下CVD)死亡、癌死亡のハザード比(HR)と95%信頼区間(以下95% CI)を推定した。

【結果】全死因死亡、CVD死亡はすべての運動により減少した。例として、一週間に5日以上体を動かす作業を行う群は同様の作業を行わない群に対してHRは0.38(95% CI=0.22, 0.55)であった。疾患の有無により層別しても結果は同様であった。癌死亡と運動の関連性は明らかでなかった。

【結論】本研究により、疾患を有する高齢者においても運動は有益であることが示唆された。

発表日 7/15 時間 4:20 PM

タイトル 給食弁当を原因食品とする *Salmonella* Braenderup による食中毒  
専攻分野 衛生学・予防医学 学生番号 71419069 発表者 ○○ ○○

【緒言】先進国では主要な食中毒事件について疫学調査、微生物学的調査、環境調査をまとめて論文にし、政策決定に必要なリスク評価に活用しているが、わが国では論文にされている事例は極めて少なく政策決定に活用できていない。国内外で発生が稀な *Salmonella* Braenderup(SB)による食中毒を分析し、原因食品及び発生防止策を提示する。

【方法】原因食品を明らかにするために Historical cohort study を行い、症例の定義はA社が製造した8月9日昼の昼食弁当を喫食し、8月9日0時から8月14日0時までの間に下痢4回以上または発熱体温38℃以上を呈した者とした。また、環境調査、微生物検査を行った。

【結果】製造食数786に対し644名から回答を得た。Attack rateは日替わり26.6%、ちびっこ75.0%、麺1.2%であったため麺弁当は本食中毒と関連がないと考えられた。提供された各食品の相対危険度、95%信頼区間を算出し、卵とじ(11.74, 2.98-46.24)、煮付け(3.17, 1.24-8.10)、酢の物(4.13, 1.60-10.63)で本食中毒と関連が認められたが、煮付けと酢の物は本食中毒と関連のない麺弁当にも含まれていたため、卵とじを関連のある食品とした。環境調査から未殺菌液卵の加熱不足によるSBの残存、未殺菌液卵が接触した器具を介した二次汚染によるSBの付着が原因と疑われた。症例5名、従業員6名の便からSBが検出された。

【考察】本食中毒はSBに汚染された未殺菌液卵が原因と疑われた。未殺菌液卵による食中毒を防ぐためには、十分に加熱ができない食品には未殺菌液卵を使用しない、あるいは、未殺菌液卵に接触した器具について適切な洗浄と消毒を実施し二次汚染を防ぐ必要がある。また、ハイリスク集団に提供する施設や大量調理施設においては未殺菌液卵の使用を控えるべきである。

**タイトル** Routine Antenatal care visits and neonatal mortality, in Indonesia

**専攻分野** 疫学・衛生学 **学生番号** 71420081 **発表者** ○○ ○○

**Background:** Antenatal care and prenatal care are key health intervention for reducing maternal and newborn morbidity and mortality. Thus, Indonesian Government recommends pregnant women to have at least 4 times antenatal care visits during pregnancy.

**Objectives:** This study aims to evaluate the relationship between frequency of antenatal care visit during pregnancy and neonatal mortality and to assess antenatal care in which semester contributes to neonatal mortality in most.

**Methods:** Data on frequency of antenatal care visit during pregnancy period of total number of visit were first three months, between four and sixth months and between seventh and delivery. The subjects from the women at reproductive age 15-19 years and selected 13055 of single births were obtained from individual records mother-child pairs data in the 2003-2007 Indonesia Demographic Health Survey. Crosstab, crude and adjusted odds ratio using logistic regression models were performed to analyzed the exposures associated with neonatal mortality.

**Results:** The number of pregnancy women in rural area for each category of visit from total antenatal care visit to last trimester was higher than the number of pregnancy women in urban area. Age year's group of women within 25-29 years old also as the highest number of pregnancy women at the each category of visit and the lowest is within 45-49 years old. Furthermore, secondary of educational level was the highest than other levels for each category of visit and birth order for the first children was the highest followed second, three children and more respectively. During pregnancy the total number of antenatal care visits in 2 to 3 visits category, 4 to 6 visits category, 7 to 9 visits category and more 10 visits on four risk factors were not associated with neonatal mortality either crude or adjusted. Antenatal care visit in the first and second trimester no one showed significant association with neonatal mortality. Nevertheless, the proportion the number of neonatal mortality and the number of women visit for each categorical visit showed tend reverse causation which both groups showed in three visits and more the proportion of neonatal mortality tend to be high but not showed significant. In the last trimester, showed the odds being decreased by the more frequency of visit either crude or adjusted with (OR = 0.77, 95%CI = 0.46 to 1.13) to (OR = 0.76, 95%CI = 0.45 to 1.29), (OR = 0.55, 95%CI = 0.34 to 0.88) to (OR = 0.54, 95%CI = 0.33 to 0.87), (OR = 0.32, 95%CI = 0.18 to 0.58) to (OR = 0.31, 95%CI = 0.17 to 0.58) respectively, and strong association with reducing neonatal mortality ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** This present study showed a significant relationship between antenatal care visit and neonatal mortality. This study strongly suggested that effective intervention especially in the third semester should be conducted and these results may good recommendation for pregnancy women in Indonesia.

**タイトル** Establishment of an Immortalized Porcine Liver Cell Line JSNK-1 with Retroviral Transduction of SV40T

**専攻分野** 消化器・腫瘍外科学 **学生番号** 71420056 **発表者** ○○ ○○

#### ABSTRACT

[Introduction] Maintenance of freshly isolated porcine liver cells in vitro is limited for a short period of time. Hence, establishment of easy-handling cell lines is extremely important for in vitro study for liver cells and their possible utilization for cell differentiation and growth

of stem cells.

[Methods] Porcine liver cells were transduced with a retroviral vector SSR# 69 expressing SV40T, one of SSR# 69-immortalized porcine liver cell lines, JSNK-1, was established and characterized.

[Results] Morphology of JSNK-1 cells was spindle-shaped. When confluent, cells revealed hills-and-valleys pattern. In the presence of vitamin A, cells showed big fat droplets. JSNK-1 cells showed the gene expression of collagen type1 $\alpha$ 1 and 1 $\alpha$ 2, FLT-1,  $\beta$ -actin and SV40T. Immunostaining study revealed that these cells produced collagen and Vimentin. JSNK-1 cells possessed the characteristics of the liver stellate cells. When co-cultured with iPS cells towards the hepatic differentiation, JSNK-1 cells facilitated their hepatic differentiation in terms of albumin production.

[Conclusions] JSNK-1 cells would be valuable in the study of liver stellate cell pathophysiology and contribute to the optimization of hepatic differentiation of iPS cells.

発表日 7/16 時間 4:40 PM

タイトル 副甲状腺ホルモン関連タンパク質シグナルを分子標的としたがん骨破壊病変制御  
専攻分野 口腔顎顔面外科学 学生番号 71418106 発表者 ○○ ○○

<目的> Parathyroid hormone-related protein (PTHrP)は悪性腫瘍が産生する骨破壊を促進する代表的因子であり、乳がん患者の骨転移巣に高頻度に発現するタンパク質である。活性化された破骨細胞は骨を破壊することで腫瘍細胞の増殖・進展するスペースを確保し、同時に骨から放出された TGF- $\beta$  や IGF などの増殖因子はさらに腫瘍細胞を活性化し PTHrP 産生を高める「悪循環」を引き起こす。産生された PTHrP は、骨芽細胞/骨髄ストローマ細胞の膜上に存在する PTH 1 受容体に結合することで、骨微小環境における骨芽細胞と破骨細胞のクロストークにより骨転移巣での骨破壊と腫瘍の増大の悪循環を継続させる。このたび新規開発された経口 PTH 1 レセプターアンタゴニスト (JB4365) のがん骨転移巣における骨破壊制御効果を本研究により検討した。

<方法> ヒト乳がん細胞株 (MDA-MB-231) を用いて骨転移動物モデルを作成し、JB4365 を経口投与 (60mg/kg、連日) し投与後 28 日の時点での大腿骨部を放射線画像、病理組織学的検査を用いて評価した。さらに、in vitro では同アンタゴニストが破骨細胞形成、骨髄ストローマ細胞 (ST2) シグナリングに与える影響に関して評価した。

<結果および考察> 放射線、病理組織両検査において確認された結果から、JB4365 ががん骨転移モデルの転移巣において骨破壊を抑制する効果を持つことが示された。in vitro の実験結果では、JB4365 は破骨細胞の形成および活性化を抑制した。JB4365 は骨転移巣において誘導される破骨細胞を介した骨破壊を抑制することで、腫瘍細胞の転移巣での増殖を抑制することが明らかになった。

<結論> 本研究成果により骨破壊病変の微小環境での悪循環において、経口 PTH 1 受容体アンタゴニストによる骨破壊制御における有用性が示唆された。

発表日 7/16 時間 5:00 PM

タイトル 膀胱上皮内癌における P16, P53, pRB の発現と BCG 治療におけるマーカーとしての有用性  
専攻分野 病理・病態学 学生番号 71419035 発表者 ○○ ○○

【緒言】 p16INK4 タンパクは、Rb タンパクをリン酸化するために作用する CDK4 のインヒビターであり、癌抑制遺伝子である Rb や p53 とともに細胞周期の制御に関与している。

また膀胱尿路上皮癌 (CIS) においても発癌と進行に深く関与している。

本研究では、CIS における p16, p53, pRb のタンパク発現状態と BCG 治療効果との関連を検討した。

【材料と方法】 対象は岡山医療センターで 2003 年から 2009 年までに経尿道的手術または生検により診断された CIS 組織 31 例で、内 23 例は CIS と乳頭状尿路上皮癌 (PapUC) の併存例であり PapUC の深達度

は、pTa, pT1 であった。PapUC 併存例は乳頭状病変とは連続性のない離れた CIS 病変で評価した。

p16 免疫染色の結果の評価は、CIS 組織の上皮部分に全く発現のないもの (A), 部分的な発現が見られるもの (B)、ほぼすべての核、細胞質に強い発現があるもの (C) の 3 群に分類した。p53, pRb は核に染色されたものを評価し、p53 は  $\geq 30\%$ 陽性のものを異常発現とし、pRb は陽性細胞が  $\geq 30\%$ または  $\leq 5\%$ を異常発現とした。

BCG 治療の効果と p16, p53, pRb タンパク発現状態の関係は、経過観察可能であった 28 症例で評価した。治療効果の判定は、BCG 治療終了から 4 週間経過した後の組織生検または細胞診で判定した。組織生検で良性または細胞診で 3 回連続陰性の結果が得られたものを有効とし、組織生検で病理学的病期が進行するか細胞診で悪性が持続したものを無効とした。

【結果】 p16 の染色結果は、A が 9 例 (29%)、B が 13 例 (42%)、C が 9 例 (29%) であった。p53 の異常発現は 13 例 (42%) に、pRb の異常発現は 20 例 (65%) にみられた。CIS の BCG 治療における奏効率は 28 例中 22 例 (79%) であった。各タンパク発現別では、p16 高発現群 (C) の全例で BCG 治療が有効であり、p53 異常発現群は治療有効例が 13 例中 12 例 (92%) と多かった。pRb 異常発現群は治療無効例が 18 例中 6 例 (33%) とやや多いのが特徴であった。複合条件で見ると p16 が高発現を示さず (A or B)、p53 低発現、pRb 異常発現を満たす群は 8 例中 5 例 (63%) が治療無効例であった。

【考察・まとめ】 2008 年に Ming らは膀胱上皮内癌のすべての症例で p16 タンパクの高発現があり非腫瘍性の異型上皮と鑑別できると結論づけたが、我々が検討した結果では p16 が高発現を示す症例は 29% であった。CIS の治療前の p16, p53, pRb のタンパク発現は、BCG 治療の奏効率と相関があり、これらのマーカーを組み合わせることは BCG 治療の効果を予測するのに有効といえる。

発表日 7/16 時間 5:20 PM

タイトル 消化管における十二指腸びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の臨床病理学的特徴

専攻分野 病理学 (腫瘍病理/第二病理)

学生番号 71419036

発表者 ○○ ○○

#### 【緒言】

びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL) は、遺伝子発現の違いにより 2 つの異なる亜型、germinal center B-cell-like (GCB) タイプと non-germinal center B-cell-like (non-GCB) タイプに分類でき、前者は後者より予後が良いとされている。これら 2 つの亜型は、CD10、BCL-6、MUM1 の免疫組織化学染色によっても分類できることが知られており、これまでに 2 つの亜型の割合が DLBCL の原発する臓器によって異なることが分かっている。われわれは 19 例の十二指腸 DLBCL を 2 つの亜型に分類し、その傾向を調べた。次にその結果を踏まえ、十二指腸で高頻度に発生する濾胞性リンパ腫 (follicular lymphoma: FL) との関連を t(14;18) 転座を検出することにより検討した。

#### 【方法・結果】

十二指腸 DLBCL 19 例における免疫組織化学染色の結果、13 例 (68%) が GCB タイプであり、十二指腸では優位であることを得た。次に、Fluorescence in situ hybridization 法を用い、十二指腸 DLBCL 19 例と対照群として胃と大腸の DLBCL 9 例について t(14;18) 転座を調べた。結果、6/17 例 (35%) の十二指腸 DLBCL において t(14;18) 転座が検出され、これらはすべて GCB タイプ (6/11 例; 55%) であった。non-GCB タイプ 6 例には検出されず、t(14;18) 転座は GCB タイプに有意に存在することが判明した (p=0.025)。また胃と大腸の DLBCL では全例検出されず、十二指腸における有意性が示唆された (p=0.042)。

#### 【まとめ】

十二指腸 DLBCL は GCB タイプが優位であり、約半数には t(14;18) 転座があることが分かった。十二指腸で FL の発生頻度が高いことも併せ、十二指腸 DLBCL の約半数は FL より進展している可能性があることが示唆された。今回われわれは十二指腸 DLBCL と FL の関連を最初に報告した。この報告が十二指腸における DLBCL の腫瘍発生を示す重要な手掛かりとなり得ると考える。

## タイトル 限局期節性びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討

専攻分野 病理学 (腫瘍病理) 学生番号 71420038 発表者 ○○ ○○

【目的】悪性リンパ腫の予後を予測する因子は数多く検討されているが、International Prognostic Index が最も重要な因子として考えられている。近年、Hans らにより CD10、BCL6、MUM1 の抗体を用いた免疫組織化学的所見から、germinal center B-cell-like (GCB) と non-germinal B-cell-like (non-GCB) に分類する方法がびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL) の重要な予後指標として報告されたが、限局期の節性 DLBCL に関する報告はない。そこでわれわれは節性 DLBCL の中でもステージ I と II の限局期に焦点をあて、臨床病理学的所見と免疫組織化学的所見について比較検討を行った。

【対象と方法】1997 年から 2008 年の間に中国中央病院と富山県立中央病院で診断および治療されたステージ I および II の節性 DLBCL 39 例を対象とし、免疫組織化学的に CD10、BCL6、MUM1、CD5、BCL2、P-53、Ki-67、EB ウイルスについて検索した。

【結果】免疫組織学的に GCB type 20 例 (51%) と non-GCB type 19 例 (49%) に分類された。年齢は、33~79 歳 (平均 65 歳、中央値 68 歳)、腫瘍の大きさは 1~8cm (平均 3.4cm) であった。発生部位は頸部が 29 例 (74%) と最も多く、続いて鼠径部 4 例 (10%)、腋下 4 例 (10%)、その他 2 例 (6%) であった。治療後 16 例 (41%) に再発が認められた。そのうち 13 例 (81%) は初発部位とは離れた領域のリンパ節や節外臓器に再発し、初発部位と同部位での再発は 3 例に過ぎなかった。5 年生存率は、event free survival が 53%、overall survival が 66% であった。単変量解析では、GCB 群が non-GCB 群に比べ有意に再発率が高い傾向にあったが ( $p=0.0348$ )、その他の因子 (腫瘍の大きさ、年齢、IPI、LDH、sIL-2R、CD5、BCL2、P-53、Ki-67、EB ウイルス) はいずれも有意差はみられなかった。

【まとめ】DLBCL の病理組織学的診断に際して、GCB と Non-GCB に分類することは、限局期であっても予後を予測する上で重要と考えられた。また、初発部位とは異なる部位に再発する頻度が高く、完解後の follow には全身的な検索が必要であることが示唆された。

## タイトル Down-regulation of BCR signaling component CD79b in plasma cell myeloma: Potential post-transcriptional mechanism

専攻分野 病理学 (腫瘍病理) 学生番号 71419034 発表者 ○○ ○○

The CD79 molecule, a  $Ig\alpha/\beta$  heterodimer, encoded by the mb-1 (CD79a) and B29 (CD79b), is a signaling unit of B cell receptor (BCR) complex which transmits signals that regulate B cell activation, growth and differentiation. Both the CD79a and CD79b genes are B cell specific and expressed at all stages of B cell development, except the plasma cell stage. The regulation of CD79 expression in plasma cells is still controversial. Especially, the data of CD79b expression is limited. Our study is therefore to detect the CD79b expression in normal and neoplastic plasma cell by immunohistochemical detection with a novel antibody which has a good reactivity in paraffin-embedded tissue sections. Out of 23 clinical specimens and 11 cell lines of MM, all of clinical specimens and 90.9% (10/11) of cell lines were immunochemically negative for CD79b, and most of the non-neoplastic plasma cells in reactive lymph node specimens also demonstrated loss of CD79b expression. Immunocytochemical, RT-PCR and Western blot analysis were performed on MM cell lines to confirm our finding, and to clarify whether the down-regulation of mRNA transcription of CD79b is attributable. Interestingly, we detected mRNA transcripts of CD79b in MM cell lines but lack of protein translation. These findings suggest that down-expression of CD79b in potentially require a post-transcriptional regulation.



**タイトル** 免疫二重染色を使った悪性リンパ腫の軽鎖免疫グロブリンクロナリティの検出。  
**専攻分野** 病理学（腫瘍病理） **学生番号** 71420037 **発表者** ○○ ○○

【緒言】悪性リンパ腫の診断には細胞形態の他、免疫染色やフローサイトメトリー（FCM）が用いられている。特に FCM はリンパ球の表面マーカー検索に大変有用である。しかしながら FCM は形態観察が出来ず腫瘍細胞数が少ない場合判定できない事がある。本研究では悪性リンパ腫を疑う検体を細胞診標本で免疫二重染色を行い、免疫グロブリン軽鎖（ $\kappa$  鎖および $\lambda$  鎖）のモノクロナリティの有無を検出して、フローサイトメトリーとの比較検討を行った。

【対象と方法】2009年5月～2010年5月まで悪性リンパ腫を疑う40症例（リンパ節31、扁桃2、唾液腺1、甲状腺1、縦隔1、心嚢液2、胸水1、腹水1）の検体を対象とした。それぞれ検体から細胞を集め、集めた細胞は胚細胞培養液で3回洗浄後、オートスマアー又は直接塗抹し、95%エタノールで湿固定した。染色は一次抗体（ $\kappa$  鎖および $\lambda$  鎖）、二次抗体及び発色試薬はBIOCARE二重染色キット(Double Stain Polymer Detection Kit #1 USA)を用いた。後染色はギルのヘマトキシリンを使用した。判定は5視野以上1000倍で細胞500個をカウントし、 $\kappa$  鎖および $\lambda$  鎖の差が4倍以上を腫瘍性と判定した。

【結果】反応性症例、T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫では二重染色とFCM共に全例 $\kappa/\lambda$ 比はbitypeであった。B細胞リンパ腫で腫瘍性と判定できなかった症例は、二重染色で23例中3例（13%）、FCMで21例中7例（33%）であった。

【考察】FCMと細胞診二重染色結果を比較すると偽陰性率は二重染色の方が低かった。これは二重染色が形態を見ながら少数の腫瘍細胞をカウントしたため、FCMで把握できなかった腫瘍細胞を捉えることができたためと考えられる。FCMに細胞診二重染色を組み合わせることで、より感度の高い評価が可能であると考えられた。

**タイトル** NY-ESO-1 ワクチン患者における CD4T 細胞の反応解析  
**専攻分野** 免疫学 **学生番号** 71421035 **発表者** ○○ ○○

【緒言】がんワクチン療法は外科療法、放射線療法、化学療法の3大療法に次ぐ、新たながん治療として注目されている。効果的ながんワクチン療法を行うためには、がん特異的に発現しており、且つ免疫原性の高いがん抗原が必須となる。がん・精巣(cancer/testis: CT)抗原の一つであるNY-ESO-1は高い免疫原性と特異性を有することが知られている。現在、NY-ESO-1を標的としたがんワクチン療法が多数報告されており、ワクチン投与後、NY-ESO-1特異的CTLやTh1型CD4T細胞の賦活化が観察されている。本研究では、CHP-NY-ESO-1タンパクワクチン投与患者におけるNY-ESO-1特異的CD4T細胞の反応を解析した。

【方法】コレステロール疎水化プルラン(CHP)とNY-ESO-1全長タンパク複合ワクチンを用いた第1相臨床試験を施行した。ワクチン投与後の食道癌患者末梢血単核球からCD4T細胞を単離し、in vitroでの刺激によりNY-ESO-1特異的CD4T細胞を誘導した。IFN-gを指標とした免疫モニタリングを行い、誘導したCD4T細胞が認識するエピトープペプチドの同定と、反応を拘束するHLAクラスII分子の決定を行った。さらに同定したエピトープペプチドをもとにテトラマーを作製し、ワクチン投与後のCD4T細胞の反応を解析した。

【結果】食道癌症例E-2, E-8および前立腺癌症例P-4の解析により、HLA-DRB1\*0803、HLA-DQB1\*0401、HLA-DRB1\*0901拘束性NY-ESO-1エピトープをそれぞれ同定した。日本人においてHLA-DRB1\*0803は8.29%、HLA-DQB1\*0401は12.98%、HLA-DRB1\*0901は13.76%と高頻度に発現している。また、同定したエピトープをもとに作製したHLA-DRB1\*0803およびHLA-DRB1\*0901テトラマーによってNY-ESO-1特異的CD4T細胞が検出された。

【考察】CHP-NY-ESO-1 ワクチンによって、NY-ESO-1 特異的な Th1 型 CD4T 細胞反応が誘導された。また、HLA クラス II テトラマー染色は免疫モニタリングの有用な手法と成り得ることが示唆された。

発表日 7/16 時間 7:10 PM

**タイトル** Infusion of hypertonic saline into the lung parenchyma during radiofrequency ablation of the lungs with multitined expandable electrodes: results using a porcine model.

**専攻分野** 放射線医学 **学生番号** 71419044 **発表者** ○○ ○○

The present study was performed to clarify the effect of hypertonic saline infusion into the lung parenchyma on radiofrequency ablation (RFA) of the lungs. A total of 20 ablation zones were created in 3 pigs. The ablation zones were divided into 3 groups. Group 1 (n=6) consisted of ablation zones created by applying smaller radiofrequency (RF) power without saline infusion; group 2 (n=5) zones were created by applying greater RF power without saline infusion; and group 3 (n=9) zones were created by applying greater RF power with saline infusion. The techniques of saline infusion included administration of hypertonic saline 1 ml before RFA, followed by continuous administration at a rate of 1 ml/min during the first 2 min after the initiation of RFA. The ablation parameters and coagulation necrosis volumes were compared among the groups. Group 3 had a tendency toward smaller mean impedance than group 1 (p=0.059) and group 2 (p=0.053). Group 3 showed significantly longer RF application time than group 2 (p=0.004) and significantly greater maximum RF power than group 1 (p=0.001) and group 2 (p=0.004). Group 3 showed significantly larger coagulation necrosis volume (mean, 1,421mm<sup>3</sup>) than group 2 (mean, 858 mm<sup>3</sup>, p=0.039) and had a tendency toward larger necrosis volume than group 1 (mean, 878 mm<sup>3</sup>, p=0.077). Although this small study had limited statistical power, hypertonic saline infusion during RFA appeared to enlarge coagulation necrosis of the lung parenchyma.

発表日 7/16 時間 7:30 PM

**タイトル** 気管支鏡下生検にて診断できなかった肺病変に対する CT 透視下生検の検討

**専攻分野** 放射線医学 **学生番号** 71419045 **発表者** ○○ ○○

緒言：CT ガイド下肺生検は、臨床的に悪性が疑われながらも気管支鏡的手技にて悪性病変であることを確認できず確定診断に至らなかった病変に対してしばしば施行される。この研究の目的は気管支鏡下生検で診断できなかった肺病変に対する 20G coaxial 生検針を用いた CT 透視下生検の結果を解析しその有用性を検討することである。

方法：当院にて 2000 年 4 月から 2009 年 10 月までに行われた、気管支鏡下生検で診断がつかなかった 325 症例（男 214 例、女 111 例；平均 66.7 歳）の 351 肺病変に対して施行した 341 手技の結果を検討した。まず、これらの病変に対する生検の感度、特異度、陽性適中率、陰性適中率、正診率を算出した。次に、誤診のリスクファクターを解析した。結果：生検結果は真陽性が 262 例、真陰性が 70 例、偽陽性が 0 例、偽陰性が 17 例、診断不能が 2 例であり、感度 93% (262/281)、特異 100% (70/70)、陽性適中率 100% (262/262)、陰性適中率 80% (70/87)、正診率 94% (332/351) という成績であった。有意な誤診のリスクファクターは認められなかった。

結論：気管支鏡下生検で診断できなかった肺病変に対する CT 透視下生検の診断能は良好であり、これらの病変の診断を確定するために有用な手技と考えられる。

**タイトル** ラット出血性モデルによる急性肺傷害に対する CO 吸入の治療効果**専攻分野** 麻酔・蘇生学 **学生番号** 71417021 **発表者** ○○ ○○

**序文：**ラット出血性モデルでは急性肺傷害 (ALI) が起こる。また一酸化炭素 (CO) の低濃度の吸入は、抗炎症作用や抗アポトーシス作用があることが知られている。ラット出血性モデルを用いて ALI に対する CO 吸入の治療効果を検討した。

**方法：**雄性 SD ラットの大腿静脈から脱血を行い 1 時間、平均血圧 30mmHg 維持したのち、返血し、出血性モデルを作成した。その後 CO250ppm を 3 時間吸入させて、肺の組織学的変化、炎症性メディエーター、アポトーシス、血液ガスおよびバイタルを測定した。

**結果：**出血性ショックモデル (HSR/AIR 群) では Sham-ope ラット (Sham 群) と比較して、肺組織の炎症性変化が見られて TNF- $\alpha$  mRNA や iNOS mRNA の有意な増加を認め、アポトーシスを起こす細胞の増加が確認された。CO を曝露させたラット (HSR/CO 群) では、組織の炎症性変化は改善が見られて、炎症性メディエーターの発現やアポトーシスは抑制された。また、肺組織の CO 濃度は HSR/CO 群で有意に増加し、HSR/AIR 群と HSR/CO 群の比較では平均血圧、心拍数、動脈血液ガス所見で有意な差は認めなかった。

**考察：**CO は高濃度では人体に有害な影響を及ぼすが低濃度ではその抗炎症効果、抗アポトーシス効果が期待されている。一方で、低濃度の CO 曝露中の呼吸への悪影響や、CO による血管拡張作用に伴う循環への悪影響が懸念される。本研究では、ラットへの 250ppm の CO の曝露が呼吸循環に悪影響を及ぼすことなく、出血性ショックによる急性肺傷害を軽減させることを示した。CO は比較的安価で人工呼吸管理中の患者ではその投与も容易であり、急性肺傷害への治療法の 1 つとして期待され得る。

**結語：**ラット出血性モデルによる急性肺傷害に対する CO250ppm の曝露は、呼吸循環に悪影響を与えることなく有意な治療効果が認められた。

**タイトル** 脳由来神経栄養因子をターゲットにしたデコイ核酸による疼痛治療**専攻分野** 麻酔・蘇生学分野 **学生番号** 71418020 **発表者** ○○ ○○

**【背景】**脳由来神経栄養因子 (以下、BDNF) は脊髄後角での疼痛伝達を増強すると考えられている。ラット BDNF 遺伝子は 9 つのエクソン (エクソン I - IX) から成り、それぞれスプライスバリエント mRNA として転写される。我々は以前、ラット神経障害性疼痛モデルの脊髄後根神経節 (以下、DRG) でエクソン I の転写が増加することを報告した。今回、エクソン I の転写を抑制するデコイ核酸を作成し、神経障害性疼痛に対する効果を検討した。

**【方法】**エクソン I のプロモーター領域を 3 つの長さに分けてルシフェラーゼレポータープラスミドに挿入した。プラスミドをラットグリオーマ細胞株 C6 細胞に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。その結果として強い活性がみられた領域を、さらに 7 つの断片 (A - G) に分け、それぞれの 2 本鎖 DNA を合成した。A - G の存在下で、同様にルシフェラーゼアッセイを行った。

動物は、Wistar ラットを使用した。左第 5 腰神経を結紮し神経障害性疼痛モデルを作成した。デコイ核酸の投与経路として、クモ膜下カテーテルを挿入した。神経結紮後 5 日目から 3 日間デコイ核酸を投与した。疼痛行動評価は von Frey フィラメントを用いて疼痛閾値を測定した。対照群にはデコイ配列を含まない核酸を投与した。

**【結果】**BDNF エクソン I の転写開始点より 422 - 203 塩基対上流の領域に強い転写活性を認めた。2 本鎖 DNA (A - G) の存在下では、すべてにおいて活性の低下がみられた。

行動評価では、神経結紮後 5 日間、両群とも患側の疼痛閾値が低下した。デコイ投与後 5 日間の疼痛閾値は、対照群に比しデコイ群で有意に高かった。健側の疼痛閾値は両群とも変化しなかった。

**【まとめ】**BDNF エクソン I の転写調節領域を特定し、それをターゲットとしたデコイ核酸を作成した。BDNF エクソン I ノックダウンデコイの投与により神経障害性疼痛が抑制された。

**タイトル** 先天性 QT 延長症候群 1 型, 2 型における 再分極相の変動に対する  $\beta$  遮断薬の効果 —ホルター心電図による検討—**専攻分野** 循環器内科学**学生番号** 71420005**発表者** ○○ ○○**【目的】**

先天性 QT 延長症候群(LQTS)では、交感神経刺激により致死的不整脈が誘発され、 $\beta$  遮断薬投与により予防される。今回は心拍数増加に伴う再分極相の変動に対する  $\beta$  遮断薬の影響を検討。

**【方法】**

対象は、遺伝子型の同定された LQT1 28 例 ( $\beta$  遮断薬投与群 13 例、非投与群 15 例) と LQT2 18 例 ( $\beta$  投与群 9 例、非投与群 9 例) で、ホルター心電図の CM5 誘導で、修正 QT end (QTc)、修正 T peak-end (TPEc) をそれぞれ低心拍数帯 ( $1000 \pm 25$  msec) と高心拍数帯 (LQT1  $700 \pm 25$  ms、LQT2  $750 \pm 25$  ms) において測定した。QTc、TPEc の各心拍数帯における平均値と変動 (Dispersion: 各心拍数帯における最大値と最小値の差、QTc-D、TPEc-D) を検討した。

**【結果】**

平均 QTc、TPEc は、LQT1 では  $\beta$  投与に関わらず心拍数の増加により延長を認めた。LQT2 では平均 QTc は心拍数増加により延長傾向、平均 TPEc は有意に増加した。LQT1 では、 $\beta$  投与群は非投与群に比べ、QTc-D、TPEc-D (QTc-D:  $68 \pm 25$  ms vs  $93 \pm 26$  ms、 $p=0.02$ 、TPEc-D:  $37 \pm 16$  ms vs  $58 \pm 25$  ms、 $p=0.02$ ) は高心拍数帯で有意に低下したが、LQT2 では、 $\beta$  投与群と非投与群、低心拍数帯と高心拍数帯で有意差を認めなかった。

**【結論】**

LQT1 では、交感神経刺激による心拍数増加で  $\beta$  遮断薬投与に関わらず平均 QTc、TPEc は有意に延長を認めたが、 $\beta$  遮断薬投与時の QTc-D、TPEc-D は高心拍数で減少を認めた。 $\beta$  遮断薬投与時に再分極相の変動が縮小することが、 $\beta$  遮断薬の有効性に関連する可能性が示唆された。

タイトル ラット咬合異常モデルによる顎下腺 BDNF 発現への影響

専攻分野 予防歯科学 学生番号 71419103 発表者 ○○ ○○

#### 【目的】

脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor; BDNF)は、神経細胞の発生や成長、修復等に働く分泌タンパクであり、ストレスの影響を受ける。近年、拘束ストレスによって、ラット顎下腺の BDNF 産生がすることがわかってきた。一方、咀嚼機能の減少や咬合支持の喪失が精神的ストレスを誘発することはよく知られている。本研究では、咬合異常による慢性ストレスがラット顎下腺 BDNF の産生に影響を与えるか検討した。

#### 【方法】

8 週齢 Wistar 系雄性 ラット(21 匹)を用いた。ラットを 3 群に分け、対照群は 8 週間通常飼育した。咬合異常群は、ベースライン時にデンタルタービンで両側上顎臼歯部咬頭を削合し 8 週間通常飼育した。咬合回復群は、ベースライン時に同様に咬頭を削合して通常飼育し、4 週間後にレジン修復材で咬頭を回復して 4 週間通常飼育した。実験期間終了後、顎下腺を摘出し、BDNF (mRNA およびタンパク) の発現をそれぞれ Real-time PCR 法および免疫染色法で調べた。また、ヘマトキシリン・エオジン染色の標本作製し、病理学的組織変化を調べた。さらに、ベースライン時、4 週、8 週間後に採血を行い、咬頭削合による精神的ストレスの評価として血漿 ACTH (adrenocorticotropic hormone) および Corticosterone 値を ELISA 法で定量分析した。

#### 【結果】

病理学的組織変化は、すべての群の顎下腺に認められなかった。顎下腺 BDNF の mRNA 発現は咬合異常群では、対照群・咬合回復群に比べ約 3 倍高い値を示した ( $p < 0.0016$ )。タンパク発現量においても、咬合異常群は、他の 2 群に比べ有意に高い値を示した ( $p < 0.0016$ )。一方、対照群・咬合回復群との間で有意な差は認められなかった。また顎下腺組織の BDNF タンパク発現は、導管のみに認められた。血漿 ACTH および Corticosteron 値では、咬合異常群において他の群に比べ有意に増加していた ( $p < 0.0016$ )。

#### 【結論】

咬頭異常による慢性ストレスを誘発することで、顎下腺 BDNF の発現が増加した。さらに咬頭を回復することで、顎下腺 BDNF の発現を低下させた。よって咬合異常による慢性ストレスは顎下腺に影響を及ぼすことが示唆された。

## タイトル Smad2 による歯肉上皮創傷治癒の速度抑制に関する研究

専攻分野 歯周病態学 学生番号 71419074 発表者 ○○ ○○

## 【緒言】

歯周組織の創傷治癒過程において、歯肉上皮の深行増殖を制御して間葉系組織が再生をする場を提供することは、歯周組織再生療法の成功率を高める上で非常に重要な研究課題である。Transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は上皮細胞の増殖抑制を掌る代表的な因子であり、その細胞内シグナル伝達分子である Smad2 は上皮の創傷治癒過程に重要な役割を果たすと考えられている。歯肉上皮の正常な治癒過程では、上皮細胞が遊走した後、増殖することで再上皮化がおり欠損部が被覆される。本研究では、Smad2 の発現制御が上皮の遊走および増殖の抑制、ひいては歯肉上皮の深行増殖の抑制へ繋がると考え、Smad2 を上皮特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウス (TG) と野生型マウス (WT) の口蓋粘膜における創傷治癒過程を比較し、上皮細胞の遊走能と増殖能への影響を調べた。

## 【材料・方法】

1. マウス: keratin 14 プロモーター制御下で smad2 を過剰発現する TG と WT の 10 週齢を実験に用いた。
2. 免疫蛍光染色: 口蓋粘膜における SMAD2, リン酸化 SMAD2 (P-SMAD2) の局在を調べた。
3. ウェスタンブロッティング: 口蓋粘膜における SMAD2, P-SMAD2 のタンパクを検出し、シグナル強度から量の変化を調べた。
4. 口蓋粘膜における創傷治癒モデルの作製: WT と TG の第一大臼歯付近の口蓋粘膜に骨膜に達する直径 1mm の欠損を作製し、7 日目までの創傷治癒を比較した。
5. 創傷部における上皮細胞の動態解析
  - 1) 細胞遊走関連分子の解析: 創傷治癒開始 2 日目の口蓋粘膜を採取し、ウェスタンブロッティングによって Focal Adhesion Kinase (FAK), integrin  $\alpha 3$ , keratin 16 (K 16) のタンパク産生量を調べた。
  - 2) BrdU 染色: 創傷治癒開始 2 日目の口蓋粘膜を採取し、細胞周期の S 期における細胞 DNA への bromodeoxyuridine (BrdU) の取り込みを検出した。

## 【結果】

1. TG の口蓋粘膜では、WT のものと比較して、SMAD2 および P-SMAD2 の局在シグナルが基底膜において強かった。
2. TG の SMAD2 と P-SMAD2 のタンパク量は、WT のものと比較して多かった ( $p < 0.01$ ; Student's t-test)。
3. TG の創傷治癒は、WT のものと比較して、欠損作製後 2 日目で遅延していた ( $p < 0.01$ ; Student's t-test)。
4. 欠損作製後 2 日目の創傷治癒部において、TG の K16 のタンパク量は WT のものと比較して少なかったが、integrin  $\alpha 3$  と FAK には差がなかった ( $p < 0.05$ ; Student's t-test)。
5. WT と TG の BrdU 陽性細胞数には差がなかった。

## 【考察】

再上皮化における上皮細胞では、細胞骨格の一つである K16 が強く発現することでケラチン線維の再構築がおり、細胞遊走が始まる。本研究では、Smad2 は基底細胞の増殖に影響を及ぼさずに K16 産生を抑制することが明らかになった。すなわち、Smad2 が K16 の発現を直接あるいは間接的に抑制することでケラチン線維の再構築が遅延した結果、上皮細胞の遊走能が低下し、再上皮化の遅延がおきたと考えられる。TGF- $\beta$ -Smad2 シグナルは上皮組織に対しては細胞増殖を抑制することが知られているが、K16 と Smad2 との関連性を示す報告はない。今後、そのメカニズムを解明することが、歯肉上皮創傷治癒の速度制御につながると考える。

発表日 7/23 時間 4:40 PM

タイトル 小児急性リンパ性白血病における予後不良因子とリン酸化 Akt 発現との関連について  
専攻分野 小児医科学 学生番号 71417049 発表者 ○○ ○○

【緒言】小児の急性白血病はほとんどが B-precursor ALL (B-pre ALL) であり様々な予後不良因子が解析され、年齢や白血球数、染色体異常、初期治療反応性の評価により、リスク分類がなされている。Akt はリン酸化を受けることにより活性化され、アポトーシスを抑制し細胞の生存に作用することがわかっているが、今回我々は、自施設で経験した B-pre ALL 患者の白血病細胞における Akt のリン酸化の有無と予後不良因子の関連について検討した。

【方法】2002 年から 2009 年までに自施設で診断された小児の B-pre ALL 21 症例において、リン酸化 Akt (P-Akt) の発現を WB 法にて検出した。そして P-Akt の発現と、初発時の年齢、初発時の末梢血白血球数、Day8 の末梢血芽球数、および Day15 の骨髄の評価との関連について検討を行った。また B-pre ALL 細胞株 Nalm-6 に Akt1/PKB cDNA をトランスフェクションし、常に Akt が活性化状態にある細胞を作製し、抗腫瘍剤投与後のアポトーシスの割合を FCM 法にて測定し、コントロールと比較した。

【結果】Day8 の末梢血芽球数が  $1000/\mu\text{L}$  以上の患者、および Day15 の骨髄芽球比率が 5%以上 (M2 および M3) を占める患者において、P-Akt の発現が有意差を持って多いことが確認された。またコントロールと比較して、常に Akt が活性化状態にある Nalm-6 では predonisolone, dexamethasone, vincristine、そして adriamycin の投与によって誘導されるアポトーシスの割合がそれぞれ有意差をもって低いという結果が得られた。

【考察】小児 B-pre ALL において、P-Akt の発現は予後不良因子になることが想定された。また P-Akt の発現は、抗腫瘍剤に対する感受性を低下させる役割があることも示された。今後、小児の難治性 B-pre ALL において Akt は治療上の重要なターゲットになることが示唆される。

発表日 7/23 時間 5:00 PM

タイトル C 型肝細胞癌根治後の PEG-IFN 療法による再発抑制効果  
専攻分野 消化器・肝臓内科学 学生番号 39414607 発表者 ○○ ○○

【目的】C 型肝細胞癌 (HCC) 根治後の PEG-IFN 療法による再発抑制効果につき検討した。

【対象】1997 年～2009 年に当院および関連施設にて根治的治療が施行された C 型 HCC 182 例を初回根治後に PEG-IFN 治療が行われた 37 例 (IFN 群) と行われていない 145 例 (対照群) に分け、比較検討した。

【方法】IFN 治療別の生存期間及び無再発期間を Kaplan-Meier 法にて、予後因子・再発抑制因子について Cox 比例ハザードモデルにて検討した。また、propensity score を用いて両群間の背景をマッチングさせ、同様の検討を行った。

【結果】HCC 初発年齢 (中央値) は IFN 群 63 歳、対照群 68 歳であり、平均観察期間は 4.0 年であった。SVR 率は 51% であった。初発後生存率は IFN 群が対照群に対し有意に高く ( $p < 0.01$ )、IFN 効果別比較でも SVR・non-SVR 群ともに有意に生存率が高かった。初回再発率は IFN 群 SVR 症例で低い傾向にあった ( $p = 0.07$ )。第 2 回再発率は IFN 投与の有無による差は認めなかったが、SVR 群で有意に低かった ( $p = 0.02$ )。propensity score を用いての検討にても同様の結果であった。生存に関する予後規定因子は、多変量解析にて ALB 高値 ( $> 3.5\text{g/dl}$ ,  $p < 0.01$ )、IFN 治療有り ( $p < 0.01$ ) であった。初回再発抑制因子は腫瘍数単発 ( $p = 0.02$ )、腫瘍径 30mm 以下 ( $p = 0.04$ )、ALB 高値 ( $p = 0.01$ )、IFN 治療 SVR ( $p = 0.16$ ) であった。第 2 回再発抑制因子は、ALB 高値 ( $p < 0.01$ )、IFN 治療後 SVR ( $p = 0.03$ ) であった。

【結論】C 型肝細胞癌根治後の PEG-IFN 療法は再発抑制および長期的な予後改善に寄与していた。

**タイトル 肝細胞癌における CTAP/CTHA の臨床的有用性**

専攻分野 消化器・肝臓内科学

学生番号 39415042

発表者 ○○ ○○

【目的】肝細胞癌（以下 HCC）に用いられる経動脈性門脈造影下 CT（以下 CTAP）と肝動脈造影下 CT（以下 CTHA）は、CT で指摘できない小さな病変が描出可能であり staging に有用である。しかし非常に小さな結節が描出されるため、偽病変との鑑別に苦慮することも多い。今回我々はこれら小結節のうちどの程度が HCC なのか、そして CTAP/CTHA の臨床的適応を明らかにするため、multi-detector row CT (MDCT) との比較検討をおこなった。

【方法】2001 年から 2004 年まで当科に入院した HCC 患者 364 症例のうち、初回発症の 67 症例を対象とした。全例診断時に MDCT を撮影し、その後 1 ヶ月以内に CTAP/CTHA を実施した。MDCT で認められず CTAP/CTHA で描出された結節が HCC か否か、組織学的あるいは画像追跡により検討した。

【結果】MDCT で描出されず、CTAP/CTHA で指摘された結節は 31 症例に 74 結節あった（中央値 9mm）。そのうち 10 結節は腹部超音波で確認されたため腫瘍生検を実施し、7 結節が HCC と診断された。残り 64 結節は腹部超音波で描出できず、MDCT を用いた追跡調査を実施したところ中央値 630 日の経過で 18 結節が典型的な HCC 像を呈するようになった。最終的に 74 結節中 25 結節（34%）が HCC と診断された。多変量解析では、これら追加 HCC は初回診断時の最大腫瘍径が 30mm を超えたとき有意に描出されていた（ $P=0.002$ ）。

【結語】初発 HCC 症例において、CTAP/CTHA は最大腫瘍径が 30mm を超える場合において有用であると思われる。

**タイトル 2 型糖尿病患者における血液中単球の活性化状態解析とスタチンの抗炎症効果の検討**

専攻分野 腎・免疫・内分泌代謝内科学

学生番号 71418038

発表者 ○○ ○○

【緒言】糖尿病血管合併症の発症進展には血管壁に起こる軽微な炎症、Microinflammation が関与すると考えられている。HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）は脂質低下作用以外に抗炎症作用等の多面的作用を有している。我々は以前に、スタチンが糖尿病ラットに対して抗炎症作用を介して腎症の進展を抑制することを報告した。腎組織に浸潤したマクロファージはサイトカイン産生等を介して腎障害に関与するが、糖尿病患者の末梢血単球が活性化しているか否かは不明である。

【目的】糖尿病患者の血清中炎症関連分子濃度および末梢血単球の活性化状態を解析するとともに、ピタバスタチンの単球に対する作用を検討した。

【方法】①2 型糖尿病患者 66 名の血清サイトカイン、ケモカイン、細胞接着分子濃度とアルブミン尿、脈波伝播速度 (baPWV) ・頸動脈内膜中膜複合体厚 (IMT) との関連を検討した。②脂質異常症及び腎症を有する 2 型糖尿病患者の末梢血単球の遺伝子発現プロファイル DNA マイクロアレイで解析するとともに、ピタバスタチン投与前後の変化を検討した。③高糖濃度条件で培養した THP-1 細胞における炎症関連遺伝子発現及びピタバスタチンの効果を検討した。

【結果】①糖尿病患者の血清 TNF- $\alpha$ 、IP-10 はアルブミン尿、baPWV、IMT と正相関を認め、重回帰分析では TNF- $\alpha$  はアルブミン尿の、IP-10 は baPWV、IMT の有意な説明変数となった。②DNA マイクロアレイでは糖尿病患者の末梢血単球における炎症関連遺伝子発現は亢進しており、1 ヶ月間のピタバスタチン投与により単球の炎症関連遺伝子発現が低下する傾向を認めた。③高糖濃度刺激 (15mM グルコース) により THP-1 細胞の TNF- $\alpha$  遺伝子発現が増加し、ピタバスタチンにより抑制された。

【考察】①糖尿病血管合併症の程度と血清炎症関連分子濃度との間に正の相関を認め、血管合併症の進展に炎症が関与することが示唆された。②糖尿病患者の末梢血単球は活性化していることが示された。③スタチンは単球からのサイトカイン産生を抑制する事により血管合併症の進展抑制に寄与する可能性が示唆された。



**タイトル BMPによる骨芽細胞分化に対する TNF- $\alpha$  及び steroid の作用機序の検討**

専攻分野 腎・免疫・内分泌代謝内科学 学生番号 71420031 発表者 ○○ ○○

## (背景)

骨代謝には Bone morphogenetic protein (BMP) や TNF などサイトカインの他に、種々のステロイドホルモンが関与していることが知られている。しかし骨芽細胞分化に対する BMP/TNF とステロイドホルモンの相互作用については十分明らかにはされていない。

## (目的)

ステロイド(estrogen/glucocorticoid) の骨芽細胞への作用に着目し、BMP-2/TNF- $\alpha$  により制御される骨芽細胞分化への影響について検討した。

## (方法)

骨芽細胞の早期の分化に対する検討のため、マウス未分化間葉細胞 C2C12 を使用し、TNF- $\alpha$ 、BMP、エストラジオール、デキサメサゾンが存在下または非存在下で 24~48 時間培養ののち、骨芽細胞分化マーカーの mRNA 発現レベルや、イムノブロット法による標的蛋白、シグナルリン酸化の検出を行った。

## (結果)

TNF- $\alpha$  は BMP-2 による骨芽細胞分化マーカー(Runx2, osteocalcin, osterix, Alp) の発現を抑制した。Estradiol (E2) は BMP により誘導される Smad1, 5, 8 活性化と Runx2 mRNA の発現を増強し、TNF- $\alpha$  による JNK 経路の活性化を抑制した。また BMP-2 は ER の発現を増強した。一方 dexamethasone (Dex) は BMP による Smad1, 5, 8 活性化と osteocalcin mRNA の発現を抑制し、TNF- $\alpha$  による NF- $\kappa$ B シグナルの活性化も抑制した。

## (結論)

E2 は BMP シグナルの増強と TNF-JNK 経路への拮抗により、また Dex は BMP シグナルの減弱と TNF-NF $\kappa$ B 経路の拮抗により cytokine による骨芽細胞分化調節に直接的に寄与する。

**タイトル Intraperitoneal Administration of an Adenovirus Vector Carrying REIC/Dkk-3 Gene Suppresses Peritoneal Dissemination of Scirrhus Gastric Carcinoma**

専攻分野 細胞生物学 学生番号 71419037 発表者 ○○ ○○

## Background:

Gastric cancer is the second leading cause of cancer death in men and the fourth among women in the world. Among various types of gastric cancer, scirrhus gastric carcinoma (SGC) remains the worst prognosis due to high incidence of metastasis in the peritoneal cavity. Peritoneal metastasis is a critical limiting condition for the choice of treatment options to prolong patient survival. Once it occurs, the patients become inoperable.

The tumor suppressor gene REIC/Dkk-3 was first identified as a down-regulated gene in a number of human immortalized cells and human tumor-derived cell lines. We previously described that an adenovirus vector carrying REIC/Dkk-3 (Ad-REIC) selectively induced apoptosis in human prostate cancer, testicular cancer, renal cell carcinoma, pleural mesothelioma and breast cancer via activation of c-Jun N-terminal kinase. In addition, we recently reported that Ad-REIC has a host-mediated bystander antitumor effect via endoplasmic reticulum stress.

## Aim:

In the present study, we examined whether Ad-REIC injected into peritoneal cavity suppressed peritoneal dissemination of SGC.

## Methods:

Three human SGC cell lines, OCUM-2MD3, 44As3 and 58As1 were used for in vitro experiments, including

endogenous expression of REIC/Dkk-3. Induction of apoptosis by Ad-REIC was assayed using OCUM-2MD3 cells. As a peritoneal dissemination mouse model of SGC, we intraperitoneally injected OCUM-2MD3 cells ( $1 \times 10^7$ /mouse) and then applied a single dose of Ad-REIC ( $10^9$  p. f. u. / mouse) at 24 hours later. Survival of the mice and the tumor growth in the peritoneal cavity were monitored.

Results:

Endogenous expression of REIC/Dkk-3 was reduced in all three human SGC cell lines. Overexpression of REIC/Dkk-3 by Ad-REIC in OCUM-2MD3 cells resulted in only limited induction of apoptosis in culture. However, in the mouse model, a single injection of Ad-REIC significantly suppressed peritoneal dissemination of OCUM-2MD3 cells and prolonged survival of the mice. Immuno-histochemical staining revealed recruitment of natural killer cells and apoptosis in the Ad-REIC-infected tumors.

Conclusion:

Intraperitoneal administration of adenovirus vector carrying REIC/Dkk-3 gene suppressed peritoneal dissemination of SGC. Ad-REIC gene therapy may be a potential tool in a combinatorial approach to achieve a curative effect on SGC.

発表日 7/23 時間 7:00 PM

タイトル 正常皮膚及び増殖性皮膚疾患における REIC/Dkk-3 の発現解析

専攻分野 細胞生物学 学生番号 71420066 発表者 ○○ ○○

#### 【緒言】

REIC/Dkk-3 はヒト不死化細胞株及びがん細胞株において発現が減少する新規のがん遺伝子としてクローニングされた。アデノウイルスベクターを用いて REIC/Dkk-3 を過剰発現させると、小胞体ストレスを誘導してがん細胞特異的にアポトーシスを起こすため、遺伝子治療の手段として注目されている。一方、多くのがん抑制遺伝子は増殖性皮膚疾患などでその発現が低下していることが知られている。そこで本研究では、REIC/Dkk-3 の皮膚における発現を詳細に検討した。

#### 【方法】

①正常のヒト及びマウスの皮膚組織を用いて REIC/Dkk-3 と各種皮膚分化マーカー (Loricrin, Keratin 1, Keratin 5) の免疫染色を行った。マウス発生段階 (14.5, 16.5, 18.5 dpc) の胎児皮膚を用いて免疫染色とウエスタンブロット法により REIC/Dkk-3 の発現を調べた。②ヒト初代培養ケラチノサイト (NHK)、不死化表皮細胞株 (HaCaT) と皮膚がん細胞株 (A431, BSCC-93, HSC-5) の REIC/Dkk-3 の発現をウエスタンブロット法により検討した。③皮膚がん (有棘細胞がん、基底細胞がん、Paget 病) 及び増殖性皮膚疾患 (尋常性魚鱗癬、水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、乾癬、扁平苔癬、脂漏性角化症、日光角化症) の患者皮膚組織における REIC/Dkk-3 の発現を調べた。④Wound-healing 法により再生したマウス皮膚と 12-O-Tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA) を塗布したマウス皮膚における REIC/Dkk-3 の発現の変化を検討した。

#### 【結果】

REIC/Dkk-3 はヒト及びマウス正常皮膚の有棘層の上層から顆粒層に渡って発現が認められた。また、マウス発生段階の胎児皮膚において REIC/Dkk-3 は 16.5 dpc から発現しはじめた。一方、NHK で認められた REIC/Dkk-3 の発現はヒト皮膚がん細胞株で消失していた。患者皮膚組織の免疫染色の結果、全ての皮膚がん及び各種増殖性皮膚疾患において REIC/Dkk-3 の発現低下を認めた。再生皮膚や炎症により肥厚したマウス皮膚においても同様に発現が低下していた。

#### 【まとめ】

皮膚の増殖・分化に関連して、REIC/Dkk-3 の発現が厳密に制御されていることが示唆された。また、皮膚がん及び各種増殖性皮膚疾患において REIC/Dkk-3 の発現が例外なく減少していた。

**タイトル 軟骨細胞分化に関わる miRNA の探索**

専攻分野 歯科矯正学

学生番号 71419094

発表者 ○○ ○○

【目的】内軟骨性骨形成における軟骨細胞の分化・増殖は、様々な因子により複雑な制御をうけている。今回、近年その制御機能がもつ生理的/病的状態での重要性が解明されつつあるマイクロ RNA (miRNA) に着目し、軟骨細胞分化制御に関与する miRNA の同定およびそれらの生理的意義を明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】ニワトリ胸骨由来正常軟骨細胞から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析により、軟骨細胞分化の進行に際して発現が低下する miRNA を探索した。並行して内軟骨性骨形成において重要な役割を果たす CCN1 タンパク質の mRNA 3' - UTR に結合するマイクロ RNA を *in silico* で予測した。こうして得られた候補 miRNA を化学合成し、軟骨細胞様 HCS - 2/8 細胞などに強制導入実験を行った。遺伝子発現量の評価はリアルタイム RT-PCR 法により行い、タンパク質の量的質的評価は Western blotting 法にて行った。また miRNA の標的配列を検証するため、予測標的配列を組み込んだ luciferase gene plasmid を作製し、reporter gene assay を行った。

【結果】マイクロアレイおよび *in silico* 解析の結果、miR - 1 と miR - 181a が候補として挙がってきた。これら miRNA を HCS-2/8 細胞に強制導入すると、軟骨細胞特有の aggrecan 遺伝子発現の著明な低下を認めた。また、CCN1 mRNA に作用する候補マイクロ RNA として挙げられた miR - 181a を同細胞に強制導入すると、CCN1 タンパク質量の低下を認めた。CCN1 mRNA 3' - UTR 中に予測された miR-181 の標的は、reporter gene assay により実験的に確認された。

【結論】本研究では、軟骨細胞分化制御に関与する 2 つの miRNA を同定することができ、そのうち miR - 181a は、CCN1 mRNA 転写後調節に関与し、それを介することで軟骨細胞形質制御に関与しており、軟骨細胞分化を制御する複雑なメカニズムの一端を担うことが示唆された。

**タイトル 軟骨特異的 CCN2/CTGF 過剰発現による加齢に伴う膝関節軟骨変性の抑制**

専攻分野 歯科矯正学

学生番号 71419091

発表者 ○○ ○○

**【目的】**

我々はこれまで CCN ファミリー蛋白質 2/結合組織成長因子(CCN2/CTGF)が培養成長板軟骨細胞の増殖・成熟・石灰化促進作用を有すること、またラット関節軟骨損傷モデルに同蛋白質を局所投与すると、その修復が促進されることなどを明らかにしてきた。

ところで CCN2 を II 型コラーゲンプロモーター下で軟骨組織特異的に過剰発現したトランスジェニックマウス (TG) を作製したところ、CCN2 の強い基質産生能を伴う内軟骨性骨形成の促進に起因した長管骨の過成長を示した。そこで胎生期からの基質の蓄積が、膝関節軟骨の加齢変性を抑制するのではないかと考え、老齢期の同マウスを用いて膝関節軟骨の解析を行った。

**【方法】**

21 ヶ月齢の雄 2 匹 [TG1 匹・ワイルドタイプマウス (WT) 1 匹]、雌 4 匹 (TG) および 18 ヶ月齢の雄 3 匹、雌 2 匹 (すべて WT) の計 11 匹を用いた。関節軟骨での外来遺伝子の発現は X-gal 染色により確認した。膝関節の状態を X 線撮影により観察した後、組織学的解析は同部のパラフィン切片を作製し、トルイジンブルー染色および各種抗体を用いた免疫染色により行い、統計学的解析を行った。

**【結果】**

膝関節軟骨における外来遺伝子の発現は生後 60 日齢まで確認し、さらに免疫染色により TG では過剰発現した CCN2 が 21 ヶ月齢の膝関節軟骨で蓄積されていることが分かった。X 線撮影の結果、WT では半数に変形性関節症様の所見がみられたのに対し、TG では明らかな異常所見はみられなかった。組織学的解析から、WT では軟骨基質におけるトルイジンブルーの異染色性が有意に低下し、免疫染色からは変性軟骨のマーカーである X 型、I 型コラーゲン、MMP13 の蓄積が有意に観察されたが、これらの変化は TG

ではみられなかった。さらに CCN2 過剰発現軟骨細胞を培養しメカニカルストレスを負荷すると、対照細胞で起こった MMPs, ADAMTS5, Col1a1 などの遺伝子発現誘導が抑制されていた。

#### 【結論】

これらの結果から、CCN2 の軟骨組織における過剰発現は、内軟骨性骨形成の促進のみでなく加齢後の関節軟骨にも影響し、加齢に伴う変性を抑制する役割があることが示唆された。

発表日 7/28 時間 4:40 PM

タイトル ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 valproic acid による滑膜肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討

専攻分野 整形外科学 学生番号 71419054 発表者 ○○ ○○

#### 【緒言】

滑膜肉腫は若年成人の四肢関節近傍に好発する悪性軟部腫瘍である。滑膜肉腫患者の 40-50% で肺転移を中心とした転移が生じるとされており、転移を有する症例での治療が問題となる。現時点では、転移症例では、根治は困難であり、新規治療法の開発が期待されている。一方、バルプロ酸(VPA)は抗てんかん剤として臨床で広く使用されており、近年 HDAC 阻害剤としての働きを有することが報告されている。今回、滑膜肉腫細胞に対する VPA の抗腫瘍効果について検討した。

#### 【方法】

滑膜肉腫細胞株 3 株を使用し、in vitro では VPA の細胞増殖抑制および細胞傷害活性、ヒストンアセチル化を調べた。in vivo ではヌードマウス腫瘍担癌モデルを作製し、(1)Control、(2)VPA(low)、(3)VPA(high)の 3 群に分けた。(2)、(3)群は VPA を 1 日 1 回経口投与、また各濃度の VPA を飲料水に混合し自由に摂取させた。腫瘍体積と体重、摘出時に血中 VPA 濃度測定、3 週間後腫瘍摘出を行い、組織学的評価を行った。

#### 【結果】

in vitro では VPA 投与で濃度依存性に細胞増殖抑制を認めた。また Xenograft モデルの腫瘍体積において、High グループが Control, low グループと比べ有意に腫瘍体積の抑制を認めた (P<0.01)。また、マウスの血中 VPA 濃度は High グループが low グループと比べ有意に血中濃度が高値であった (P<0.05)。摘出組織では、VPA 投与群で濃度依存的に壊死率、ヒストンアセチル化の亢進、TUNEL でアポトーシスの増加が見られた。

#### 【考察】

滑膜肉腫細胞において VPA 投与は濃度依存性に強い細胞増殖抑制効果を示した。HDAC 阻害剤は、DNA のエピジェネティックな変化の調節により新たな滑膜肉腫治療の可能性を示唆している。

発表日 7/28 時間 5:00 PM

タイトル マウス iPS 細胞の骨分化誘導における基礎的実験

専攻分野 整形外科学 学生番号 71419052 発表者 ○○ ○○

#### 【緒言】

iPS 細胞は分化細胞から誘導される未分化幹細胞で、遺伝学的、形態学的に ES 細胞と同等の性質を持ち、in vitro で様々な細胞に分化する可能性を有する。近年の研究では ES 細胞を適切な環境中で培養することで骨芽細胞様の細胞に分化することが示されている。我々はマウスの iPS 細胞を用いて骨分化能を検討した。

#### 【方法】

マウス iPS 細胞を骨分化誘導培地 (DMEM 15% FBS, 10<sup>-7</sup>M Dexamethasone, 10mM 2-Mercapthoethanol, 50 μg/ml Ascorbic acid) で 3 週間培養し、骨分化マーカーである Lunx2, ALP, Osteocarcin の発現を PCR で検討した。また、Alizarin Red S 染色においてカルシウムの沈着を検討した。骨分化培養を行った iPS

細胞を SCID マウスの頭蓋骨欠損モデルに移植し、4 週後の骨形成能を検討した。

**【結果】**

骨形成を示す骨分化マーカーである Osteocarcin の発現は 3 週目で最も強い発現を認めた。また、Alizarin Red S 染色においてカルシウム結節の沈着を認めた。骨分化誘導した iPS 細胞を SCID マウスに移植したところ、軟 X 線、組織標本で骨形成を認めた。しかし、移植モデルの 20%に奇形腫の形成を認めた。

**【考察】**

マウス iPS 細胞を骨分化誘導し骨形成能を検討した。マウス頭蓋骨欠損モデルに移植したところ骨形成とともに奇形腫形成を認めた。奇形腫の抑制についてはさらなる検討が必要と思われた。

**発表日 7/28 時間 5:30 PM**

**タイトル 鼻茸分離細胞における LPS を介した好酸球性炎症の制御機構**

**専攻分野 耳鼻咽喉・頭頸部外科学 学生番号 71418015 発表者 ○○ ○○**

近年、好酸球性炎症が関与する難治の副鼻腔炎の増加が問題となっている。我々は慢性副鼻腔炎における好酸球性炎症誘導モデルとして、鼻茸分離細胞 (DNPC) からのエンテロトキシン (SEB) 刺激による好酸球性炎症関連サイトカイン産生モデルを樹立し、検討を進めてきた。Toll like receptor (TLR) は病原体を認識する自然免疫の受容体であるが、好酸球性炎症への関与について我々の実験系での検討を行った。

**【目的】** DNPC の SEB 応答において TLR リガンドの与える影響について検討する。主に、TLR4 リガンドの LPS での検討を行う。

**【方法】** 酵素処理により鼻茸から DNPC を分離した。DNPC に LPS 等 TLR リガンドでの前処置を行い、SEB 存在下で培養し、培養上清中のサイトカインを測定した。

**【結果】** DNPC から SEB 刺激により、IL-5、IL-13、RANTES の産生がみられた。LPS での前処置は、DNPC からの IL-5、IL-13、RANTES 産生が有意に抑制した。抗 IL-12 抗体、抗 IL-10 抗体の添加によりサイトカインの産生抑制が解除された。また、LPS 刺激は DNPC からプロスタグランジン E2 (PGE2) 産生を誘導し、好酸球性炎症関連サイトカインの産生抑制を示した。

**【考察】** TLR4 を介したシグナルは好酸球性炎症関連サイトカイン産生を抑制した。その制御機構には、制御系サイトカインの誘導および PGE2 の誘導が関与している可能性が有ると考えられた

**発表日 7/28 時間 5:50 PM**

**タイトル 先天性股関節脱臼後に生じた大腿骨頭壊死に対する治療法とその成績**

**専攻分野 整形外科学 学生番号 71418091 発表者 ○○ ○○**

**【はじめに】** 当科では先天股脱後に生じた大腿骨頭壊死により高度の変形を生じた症例に対して大腿骨骨切り術を併用した寛骨臼回転骨切り術 (以下 RAO) による治療を行ってきた。

**【対象および方法】** 1991 年から 2005 年まで当科で大腿骨骨切り術を併用した RAO を施行した 16 例 16 股を対象とした。女性 15 例男性 1 例であった。初療が Pavlik harness 16 例、徒手整復後 Lorenz ギプス装着 2 例、overhead traction 1 例であった。手術時年齢は 13 から 41 歳で平均 23 歳、関節症の病期は前股関節症が 14 股、初期股関節症が 2 股であった。追跡治療期間は 11 から 97 ヶ月で平均 39 ヶ月であった。

**【結果】** CEA は術前平均 4.4° から最終調査時平均 35.5°、ARA は術前平均 -32.4° から最終調査時平均 -8.9°、ATD は術前平均 -11.1mm から最終調査時平均 12.4mm、関節裂隙は術前平均 4.1mm から最終調査時平均 3.9mm、OFHD は術前平均 18.3mm から最終調査時平均 14.6mm と改善を認めた。HHS は術前平均 75.4 点から最終調査時平均 96.4 点となり、脚長差は術前平均 20.3mm から最終調査時平均 9.7mm と改善していた。

**【考察】** 先天股脱後の高度骨頭壊死に対し手術的加療を行ったものの治療成績についての報告は少なく、

また手術手技に関しても確立されておらず、その成績は芳しくない。二次性股関節症の進展を防ぐために、股関節を安定化させ応力集中を避けることを目的として RAO が広く施行されている。しかし股関節適合性の不良なものは成績が悪いことが知られている。当科では関節適合性を確認するために術前股関節造影を行い、動的評価に基づいて大腿骨骨切り術の併用を考慮している。今回の検討では約 3 年と短期の追跡調査であるが良好な成績がえられた。特に臼蓋被覆の改善と骨頭の内方化がえられたことで加重面が増大し、疼痛は著明に改善した。しかし高度骨頭変形を呈する症例や、良好な適合性がえられなかった症例は関節裂隙狭小化を認めた。以上より関節症変化を呈する初期の段階での大腿骨骨切り術を併用した RAO は有効な治療法であり、適応を充分考慮して行う必要がある。

発表日 7/28 時間 6:10 PM

タイトル Combination Treatment of bFGF/GDF-5 and Hydrogels Stimulates the Healing of Medial Collateral Ligament Injury

専攻分野 整形外科学 学生番号 71419050 発表者 ○○ ○○

【目的】 組織修復には、細胞、成長因子、細胞外基質が重要とされる。膝内側側副靭帯 (MCL) の修復を促進する成長因子は多数報告されているが、最適な成長因子の組み合わせは明らかになっていない。今回、bFGF/GDF-5 含有ハイドロゲル投与による靭帯組織修復効果について検討した。

【方法】 MCL 由来線維芽細胞の bFGF と GDF-5 に対する細胞増殖能と遊走能を proliferation assay と migration assay にて評価した。また、日本白色家兎 MCL に径 3mm の欠損を作製し、各成長因子 10  $\mu$ g をペプチドハイドロゲル(Puramatrix)と混合し充填した。術後2週、4週でMCLを採取し、real-time RT-PCRを用いてI/III型コラーゲンの発現を比較した。組織像は、HE染色、マッソントリクローム染色、コラーゲンの免疫染色にて評価した。靭帯修復の評価には、膠原線維の配列、線維芽細胞の形態を点数化したスケールを用いた。

【結果】 bFGF と GDF-5 の両成長因子投与により、細胞増殖能、遊走能が相加的に増強された。家兎 MCL 損傷モデルにおいては、術後 2 週で、両成長因子投与により、I 型コラーゲンの発現が増強されたが、III 型コラーゲンの発現は低いレベルに抑えられた。靭帯修復においては、両成長因子投与により膠原線維の配列、線維芽細胞の形態ともに正常靭帯組織に近い数値が得られた。

【考察】 bFGF、GDF-5、ハイドロゲルの投与により、早期に癒痕の少ない靭帯組織修復が促進された。bFGF と GDF-5 投与で I 型コラーゲンの発現が増強され、III 型コラーゲンの発現が抑えられることにより、良好な靭帯修復が誘導されるものと考えた。

発表日 7/28 時間 6:30 PM

タイトル テロメラーゼ依存性腫瘍融解ウイルス製剤の骨軟部腫瘍への応用 Telomerase-Specific Replication-Selective Virotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcoma

専攻分野 整形外科 学生番号 71419051 発表者 ○○ ○○

【目的】 多くの悪性腫瘍は、テロメラーゼ活性が高い事が知られている。その点を利用し我々は、アデノウイルスを基本骨格とし、ウイルス増殖に必須の E1 遺伝子をテロメラーゼプロモーターで制御するよう改変されたウイルス製剤 OBP-301 (Telomelysin)を開発した。今回、OBP-301 を用いて悪性骨・軟部腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果を in vitro、in vivo で検討を行った。

【方法】 14 種類の骨軟部腫瘍の細胞株に対して XTT assay を行い、ID50 を計測した。qPCR を使用し各細胞株の human telomerase reverse transcriptase (hTERT)mRNA を測定した。また FACS を用いて coxsackie adenovirus receptor (CAR) を測定した。XTT assay で効果的であった骨腫瘍、軟部腫瘍より 1 種類ずつの細胞株を用いて nude mouse に背部腫瘍を作成し OBP-301 の抗腫瘍効果を検討した。

【結果】 XTT より OBP-301 の抗腫瘍効果は時間、濃度依存性であることが確認でき、14 種類中 12 種類で抗腫瘍効果を認めた。OBP-301 の抗腫瘍効果の低い細胞は CAR や hTERTmRNA の発現を認めなかった。In

vivo で骨、軟部腫瘍ともに高い抗腫瘍効果を認めた。

【考察】OBP-301 は選択的抗腫瘍効果がいくつかの癌で証明されているが、悪性骨・軟部腫瘍においてはまだ報告が少ない。OBP-301 は体表からの腫瘍選択的な投与であり、悪性四肢骨・軟部腫瘍では他の悪性腫瘍と比べ比較的投与が容易というメリットがある。本研究により OBP-301 は悪性四肢骨・軟部腫瘍治療の新たな選択肢としての可能性が示唆されている。

**タイトル 知的障害者歯科治療時の静脈内鎮静法における Bispectral Index 及び Target Controlled Infusion の有用性**

専攻分野 歯科麻酔・特別支援歯学

学生番号 07419101

発表者 ○○ ○○

**【緒言】**

静脈内鎮静法は、知的障害者の歯科治療時の行動調整法として極めて有用であるが、患者とのコミュニケーションをとることが困難であることから、至適鎮静レベルの評価が難しく、麻酔薬の至適投与量の決定に難渋する。近年、全身麻酔領域では脳波により麻酔深度を評価する Bispectral Index (BIS) が用いられ、これを指標に麻酔薬の投与量を決定している。また薬物投与においては Target Controlled Infusion (TCI) が導入され、薬物投与をより簡便かつ精密に行うことができる。そこで BIS 及び TCI を知的障害者歯科治療時の静脈内鎮静法に応用することにより、より客観的にかつ高い精度で至適鎮静レベル及び麻酔薬の至適投与量を決定できるのではないかと考え、その有用性の検討を行った。

**【方法】**

本研究は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得て行われた。

ミダゾラムとプロポフォールを用いて静脈内鎮静法下にて歯科治療を予定した知的障害者を対象とした。BIS モニターにて鎮静レベルを評価し、プロポフォール投与を TCI で行う群 (BIS-TCI 群) と、鎮静レベルを歯科麻酔科医が判定し、用手的に行う群 (従来群) の 2 群に無作為に分け、プロスペクティブに検討した。検討項目はプロポフォールの平均投与量、麻酔薬投与中止から睫毛反射が回復するまでの時間 (睫毛回復時間)、麻酔薬投与中止から自然開眼までの時間 (覚醒時間) とした。

**【結果】**

BIS-TCI 群においてプロポフォールの投与量が有意に減少し、睫毛反射回復時間、及び自然開眼時間が有意に短縮された。また両群共に術中、術後合併症は認められなかった。

**【結論】**

BIS 及び TCI を用いた静脈内鎮静法は、至適鎮静レベル及び適切な薬物投与量の決定が可能であり、静脈内鎮静法時の麻酔薬の過剰投与を防ぐことができることから、知的障害者の歯科治療時に有用な方法であることが示された。

**タイトル In vivo and in vitro analyses of t-PA neurotoxicity in rats and protection by edaravone**

専攻分野 脳神経内科学

学生番号 71418202

発表者 ○○ ○○

**【緒言】** INTRODUCTION: One of the therapeutics for acute cerebral ischemia is tissue plasminogen activator (t-PA). Using t-PA after 3h time window increases the chances of haemorrhage, involving multiple mechanisms. For most ischemic stroke patients edaravone is used as a neuroprotectant in Japan.

**【方法】** MATERIAL AND METHODS: For in vivo study, normal Wistar rats intracerebrally received vehicle, plasmin or t-PA, followed by intravenous edaravone or vehicle. At 6h after the administration rat brains were perfused, hematoxylin and eosin staining, and immunostaining for oxidative stress markers (4-HNE, HEL, 8-OHdG, AGE) and neurovascular unit markers (NAGO, occludin, collagen IV, MMP-9, GFAP) were performed. In in vitro study, after an administration of vehicle, plasmin, t-PA or edaravone from upper or lower insert, Na-F (natrium-fluorescein) assay, NAGO, occludin, claudin 5 and GFAP immunostainings were performed.

**【結果】** RESULTS: Plasmin and t-PA damaged rat brain with most prominent injury in the t-PA group, on 4-HNE, HEL, and 8-OHdG immunostainings. Such brain damages were strongly decreased in t-PA plus edaravone group. For the neurovascular unit immunostainings, a total area of occludin and collagen IV stainings were decreased in single plasmin or t-PA group, but which greatly recovered



in t-PA plus edaravone group. In contrast, MMP staining was the strongest in t-PA group, less in plasmin, and was the least prominent in t-PA plus edaravone group. In vitro data showed a strong damage to tight junctions for occludin and claudin 5 in both administration groups, while there were no changes for endothelial (NAGO) and perivascular (GFAP) stainings. Such damage to tight junctions was also recovered in t-PA plus edaravone group with similar recovery in Na-F permeability assay

【考察】【まとめ】 CONCLUSION: Administration of t-PA caused oxidative stress damage to lipids, proteins and DNA, and led to disruption of outer parts of neurovascular unit, greater than the effect in plasmin administration. Additive edaravone ameliorated such an oxidative damage by t-PA with protecting outer layers of BBB (in vivo) and tight junctions (in vitro).

発表日 7/29 時間 4:40 PM

**タイトル** Antiapoptotic and antiautophagic effects of glial cell line-derived neurotrophic factor and hepatocyte growth factor after transient middle cerebral artery occlusion in rats.

**専攻分野** 脳神経内科学 **学生番号** 71419007 **発表者** ○○ ○○

【緒言】 Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and hepatocyte growth factor (HGF) are strong neurotrophic factors, which function as anti-apoptotic factor. However, the neuroprotective effect of GDNF and HGF in ameliorating ischemic brain injury via anti-autophagic effect has not been examined. Therefore, we investigated GDNF and HGF on the changes of infarct size, anti-apoptotic and anti-autophagic effects after transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO) in rats.

【方法】 For the estimation of ischemic brain injury, the infarct size was calculated at 24 hr after tMCAO by HE stain. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin in situ nick labeling (TUNEL) staining was performed for evaluating anti-apoptotic effect. Western blot analysis of microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), immunofluorescence analysis of LC3 and phosphorylated mTOR/Ser2448 (p-mTOR) were performed for evaluating anti-autophagic effect.

【結果】 GDNF and HGF significantly reduced infarct size after cerebral ischemia. The amounts of LC3-I plus LC3-II (relative to  $\beta$ -tubulin) were significantly increased after tMCAO, and GDNF and HGF significantly decreased those. GDNF and HGF significantly increased p-mTOR-positive cells. GDNF and HGF significantly decreased the numbers of TUNEL, LC3 and LC3/TUNEL double-positive cells. LC3/TUNEL double-positive cells were about 34.3% of LC3 plus TUNEL-positive cells.

【考察】 This study suggests that the protective effects of GDNF and HGF were greatly associated with not only the anti-apoptotic but also anti-autophagic effects, maybe two types of cell death can occur in the same cell at the same time, and GDNF and HGF are capable of ameliorating such two pathways.

発表日 7/29 時間 5:00 PM

**タイトル** パーキンソン病モデルラットに対する間葉系幹細胞移植の神経保護効果と作用機序

**専攻分野** 脳神経外科学 **学生番号** 71419011 **発表者** ○○ ○○

間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell, MSC) は、様々な神経栄養因子を分泌することが報告されている。また、近年の報告では MSC から分泌されるケモカインである SDF-1 $\alpha$  が神経保護効果を有することが示されている。そこで本研究では、パーキンソン病 (PD) モデルラットを用いて、MSC 移植の治療効果を SDF-1 $\alpha$  に着目して検討をおこなった。ラット線条体に 6 位水酸化ドパミン (6-OHDA) を投与し 2 時間後に MSC (1

×107cells)を静脈内投与したところ、MSC 移植群ではコントロール群に比べ行動学および組織学的に有意な改善が得られた。さらに、in vitro で SDF-1 $\alpha$ を投与した 6-OHDA 添加 PC12 細胞はコントロール群に比べ有意にアポトーシスが抑制され、細胞あたりのドパミン放出量も増加した。また、SDF-1 $\alpha$ のみを投与した群では抗 SDF-1 $\alpha$ 抗体を SDF-1 $\alpha$ と共に投与した群に比べ、有意にアポトーシスが抑制されていた。これらの結果より、間葉系幹細胞移植は PD モデルラットに対して、少なくとも部分的には SDF-1 $\alpha$ を介した神経保護効果を有することが示唆された。

発表日 7/29 時間 5:20 PM

タイトル パーキンソン病モデルラットにおける尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) の変化  
専攻分野 脳神経外科学 学生番号 71420024 発表者 ○○ ○○

【目的】パーキンソン病治療において、その効果が十分発揮されるには、治療効果が最も有効であり得る早期において、この疾患の診断を可能にするバイオマーカーの同定が不可欠になる。8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) は酸化ストレスによる細胞死によって生成される DNA の代謝産物であり、近年の研究によってその有効性が示されつつある。本研究では線条体内に 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を投与したパーキンソン病モデルラットを用い、尿中 8-OHdG の経時的変化を測定し、行動学的評価および組織学的評価との関係を検討した。

【方法】毎週尿採取および行動学的評価 (Elevated body swing test, Cylinder test, Rotarod test) を 42 日間にわたって行った。隔週でアンフェタミン投与による自発回転運動を評価した。Tyrosine hydroxylase (TH)免疫染色により黒質線条体系のドパミン神経脱落を評価した。尿中 8-OHdG は ELISA 法により定量した。

【結果】尿中 8-OHdG はモデル作製後早期から著しい上昇がみられ、14 日目にピークを向かえた後、35 日目まで Control 群にくらべ有意な増加が認められた。尿中 8-OHdG と各種行動学的評価との間には有意な相関が認められた。また尿中 8-OHdG とドパミン神経残存率との間にも有意な相関が認められた。

【結論】尿中 8-OHdG における経時的変化、および行動学的評価・組織学的評価との検討により、その値はパーキンソン病の活動度を示すものと考えられた。今後さらなる研究が必要であるが、8-OHdG はパーキンソン病の病態のモニタリングにおける有用なバイオマーカーとして期待される。

発表日 7/29 時間 5:40 PM

タイトル 早期認知症におけるウィスコンシンカード分類テスト (WCST) と脳血流画像  
専攻分野 精神神経病態学 学生番号 71417029 発表者 ○○ ○○

緒言 (Introduction)

アルツハイマー病などの認知症疾患では早期でも、前頭葉または実行機能障害が存在することが広く知られている。しかし、早期認知症の前頭葉機能障害における脳血流画像の研究報告は少ない。今回我々は早期認知症患者のウィスコンシンカード分類テスト (WCST) のスコアと脳血流との関連性を検討した。

方法 (Methods)

アルツハイマー病 31 名、軽度認知機能障害 (MCI) 6 名、前頭側頭型認知症 12 名、血管性認知症 9 名、レビー小体型認知症 6 名、精神疾患 2 名、正常高齢者 11 名の計 77 名の被験者が本研究に参加した。被験者に WCST と 99mTc-ECD を用いた脳 SPECT を施行し、局所脳血流量 (rCBF) の定量化プログラムとして 3DSRT を用いた。統計解析ソフトを用いて、WCST スコアと rCBF の相関係数 (r) を求めた。

結果 (Result)

WCST の達成カテゴリー数 (CA) と rCBF との関係を見ると、両側脳梁辺縁 (左  $r=0.251$ 、右  $r=0.280$ )、両側中心前 (左  $r=0.313$ 、右  $r=0.280$ )、左中心 ( $r=0.238$ )、両側脳梁周囲 (左  $r=0.238$ 、右  $r=0.284$ )、左頭頂 ( $r=0.235$ )、右視床 ( $r=0.244$ ) で、有意な相関が認められた。Nelson 型の保続性エラー数 (PEN) と rCBF との関係を見ると、右視床 ( $r=-0.216$ ) で、有意な相関が認められた。

考察(Discussion)

本研究の結果から、WCST の CA スコアは主に両側前頭葉の、その中でも特に左中心前の rCBF と関連し、PEN スコアは右視床の rCBF と関連することが示された。WCST の中で CA スコアと PEN スコアが、異なった神経基盤からなる認知機能を反映している可能性が示唆された。

発表日 7/29 時間 6:00 PM

**タイトル Histamine inhibits advanced glycation end product-induced adhesion molecule expression on monocytes during human mixed lymphocyte reaction**

**専攻分野 薬理学 学生番号 71419001 発表者 ○○ ○○**

Background and purpose: Posttransplant diabetes mellitus (PTDM) is a frequent complication among transplant recipients. Ligation of advanced glycation end products (AGEs) with their receptor (RAGE) on monocytes/macrophages play a role in the diabetes complications. The enhancement of adhesion molecule expression on monocytes/macrophages activates T-cells, reducing allograft survival. In the previous study, we found that, among four distinct AGE subtypes (AGE-2/AGE-3/AGE-4/AGE-5), AGE-2 and AGE-3 selectively induced the expressions of intracellular adhesion molecule, cytokine production and lymphocyte proliferation during human mixed lymphocyte reaction (MLR). This study was designed to study the role of histamine in the actions of AGEs during MLR.

Experimental approach: Flow cytometry was used to examine the expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1, B7.1, B7.2 and CD40. Cytokine production of interferon (IFN)- $\gamma$ , and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) was determined by ELISA. Lymphocyte proliferation was determined by [ $^3\text{H}$ ]-thymidine uptake.

Key results: Histamine concentration-dependently inhibited the action of AGE-2 and AGE-3. The actions of histamine were antagonized by an H<sub>2</sub>-receptor antagonist, famotidine, and mimicked by H<sub>2</sub>/H<sub>4</sub>-receptor agonists, dimaprit and 4-methylhistamine. The effects of histamine were reversed by a protein kinase A (PKA) inhibitor, H89, and mimicked by a dibutyryl cAMP (dbcAMP) and an adenylate cyclase activator, forskolin. Conclusions and implications: These results indicated that histamine inhibited AGE-2- and AGE-3-induced expressions of adhesion molecule, cytokine production and lymphocyte proliferation via H<sub>2</sub>-receptors and the cAMP/PKA pathway.