

## 第529回 広島大学医学集談会

## 第40回 広島大学大学院医歯薬学総合研究科発表会（医学）

（平成23年8月4日）

1. Silencing microRNA-34a inhibits chondrocyte apoptosis in a rat osteoarthritis model *in vitro*  
 （MicroRNA-34aの発現抑制はIL-1 $\beta$ によるラット軟骨細胞のアポトーシスを減少させる）

Abouheif Mohamed Mahmoud Ibrahim  
 展開医科学専攻病態制御医科学講座  
 （整形外科学）

【はじめに】Non-codingRNAであるmicroRNA(miRNA)は、様々な疾患に関与しており、miRNA(miR)-34aは細胞のアポトーシスを誘導すると報告されている。本研究の目的は、IL-1 $\beta$ によって誘導されるラット軟骨細胞のアポトーシスがmiR-34aの抑制によって減少するかを検討することである。

【方法】MiR-34aのanti-senseをラット軟骨細胞に導入後、IL-1 $\beta$ を軟骨細胞に添加した。II型コラーゲンとiNOSの発現とTUNEL染色を行い、評価した。

【結果】MiR-34aの発現を抑制することで、IL-1 $\beta$ により誘導されたII型コラーゲンの発現抑制を減少させ、iNOSの発現を抑制できた。また、miR-34aの発現抑制により、TUNEL陽性細胞を減少させることができた。

【結論】本研究では、アポトーシスを誘導するmiR-34aの発現抑制により、IL-1 $\beta$ によるラット軟骨細胞のアポトーシスが減少した。

2. The transverse ligament as a landmark for tibial sagittal insertions of the anterior cruciate ligament: A cadaveric study

（前十字靭帯脛骨付着部における矢状面での横靭帯のランドマークとしての役割：屍体膝を用いた研究）

Wirat Kongcharoensombat  
 展開医科学専攻病態制御医科学講座  
 （整形外科学）

【目的】関節鏡視下に膝前十字靭帯（ACL）再建術を行う際には、ACLの解剖学的脛骨付着部を把握、

特に付着部の前縁を把握して脛骨骨孔を作製することが重要である。本研究では、横靭帯がACLの前縁ランドマークになり得ることを仮説として、検討を行った。

【方法】20屍体膝を用いて、関節鏡視下に横靭帯とACL脛骨付着部の前縁の同定を行った。ガイドピンをACLドリルガイドを用いて横靭帯、ACL脛骨付着部の前縁および再建ACLのための脛骨刺入中心に刺入した。その後、X線膝側面像を撮影し、解析した。

【結果】脛骨前後間距離における脛骨前縁から横靭帯までの距離の割合は、 $21.20 \pm 4.1\%$ 、ACL脛骨付着部前縁までの距離の割合が $21.60 \pm 4.0\%$ であり、これらの値は近似しており、有意な差がなかった（ $p = 0.38$ ）。

【結論】本研究によって、関節鏡視下に解剖学的付着部にACL再建術を行う際に横靭帯がACL脛骨付着部前縁の位置を把握するためランドマークになり得ると考えられた。

3. Diffusion tensor imaging of peripheral nerve in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a feasibility study  
 （CIDP（慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー）患者における末梢神経の拡散テンソル画像）

角田 貴子  
 展開医科学専攻病態情報医科学講座  
 （放射線診断学）

近年MR装置や撮像法の進歩により、頭部以外でも良好な拡散強調MR画像が得られるようになった。しかし、末梢神経に対し拡散テンソル画像を用いた報告は極めて少ない。本研究では、慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー（以下CIDP）患者において末梢神経の拡散テンソル画像の有用性について検討した。

患者群と健常ボランティア群との間で脛骨神経のFA値の比較を行った。また、患者群においてはFA値と神経伝導検査との相関についても検討した。そ

の結果、健常ボランティア群に比しCIDP患者群で脛骨神経のFA値に有意な低下がみられ、神経伝導検査では振幅とFA値との間に有意な正の相関が認められた。

従来のMR検査では検出が難しかったCIDP患者の末梢神経の異常を拡散テンソル画像で検出することができた。拡散テンソル画像はCIDPの診断の一手段となり得ると考えられる。

#### 4. Evaluation of genes identified by microarray analysis in favorable neuroblastoma

(予後良好神経芽腫にてマイクロアレイ解析によって同定される遺伝子解析)

亀井 尚美

展開医科学専攻病態制御医科学講座  
(自然科学研究支援開発センター)

神経芽腫の予後は生物学的悪性度に依存しており、予後不良な神経芽腫は遺伝的異常を認め急速に増大するが、予後良好な神経芽腫は退縮したり分化したりする。

本研究では、腫瘍死した神経芽腫16例を予後不良群とし、予後良好であった神経芽腫16例を予後良好群として、これらの腫瘍から抽出したtotal RNAからcRNAを作成し、オリゴヌクレオチドアレイを用いて得られたシグナルより2群を層別し得る遺伝子群を抽出した。その遺伝子のmRNA発現レベルを、RT-PCR法を用いて、神経芽腫116例と神経節腫5症例の臨床データとの関連を検討した。さらに、化学療法前後の発現レベルも比較し検討した。

層別された遺伝子の発現レベルは神経芽腫の生物学的特性を反映しているとともに、化学療法後にこれらの遺伝子発現が増加すると予後が良好であることから、新しい分子標的となる可能性も示唆された。

#### 5. Decreased expression in nuclear factor- $\kappa$ B essential modulator due to a novel splice-site mutation causes X-linked ectodermal dysplasia with immunodeficiency

(新規スプライス変異によるnuclear factor- $\kappa$ B essential modulator発現低下によるX連鎖性外胚葉形成不全免疫不全症候群の発症)

唐川 修平

展開医科学専攻病態情報医科学講座  
(小児科学)

外胚葉形成不全免疫不全症候群は、NF- $\kappa$ Bの活性化に重要な分子であるNF- $\kappa$ B essential modulator (NEMO)の異常が原因である。本研究では幼児期より細菌感染を反復している男児例の分子病態解析をおこなった。NEMO遺伝子exon 7のsplice acceptor siteに769-1 G>Cを同定した。クローニングによりWTおよび種々の異常mRNAの存在が明らかになった。細胞内NEMO蛋白の発現は低下しており、mutant NEMOはNF- $\kappa$ B活性が低く、WTに対し優性阻害効果を有していなかった。LPS、IL-1 $\beta$ 、CD40L刺激に対する反応は低下していた。本症例の免疫異常は、NEMOのsplice-site mutationにより種々の異常mRNAが形成されNEMO蛋白の発現量の低下をもたらし、その結果免疫担当細胞の機能低下に起因したものと考えられた。

#### 6. Mel-18 controls the enrichment of tumor-initiating cells in SP fraction in mouse breast cancer

(マウス乳がんにおけるtumor-initiating cells (癌源細胞)のSide Population (SP)分画への濃縮をMel-18が調節している)

Janakiraman Harinarayanan

創生医科学専攻探索医科学講座  
(免疫学)

エピジェネティクスの重要な制御因子であるポリコーム・グループ遺伝子群・Bmi1の蛋白質発現量が2倍異なる乳がん細胞株を作製し、NOD-scidマウスを用いて*in vivo*でTumor Initiating Cell (TIC; 癌源細胞)の頻度を測定したところ、Bmi1蛋白質発現量が50%に低下すると、Side Population (SP)細胞分画にTICが濃縮されない事が明らかとなった。さらにSP分画の割合自体も低下していた。遺伝子発現プロファイルを検討したところ、ABCチャネル分子であるBcrp1/ABCG2遺伝子などの発現が大きく低下していた。このことから、ポリコーム蛋白質群の正確な発現量調節が「Stemness」を規定しているチャネル分子の発現などに関与している事が明らかとなった。

#### 7. Relationship between arrhythmogenic pulmonary veins and the surrounding atrial substrate in patients with paroxysmal atrial fibrillation

(発作性心房細動患者における不整脈源性肺静脈とその周囲の心房基質との関係)

末成 和義  
展開医科学専攻病態情報医科学講座  
(循環器内科学)

【背景】心房細動トリガーを有する肺静脈（不整脈源性肺静脈）とその周囲の心房基質との関連性に関してまだ不明な点が多い。

【方法】発作性心房細動患者23例を対象とし、3次元マッピングシステムを用いて心房細動中にcomplex fractionated electrograms (CFEs), dominant frequency (DF, Fast-Fourier transform) の解析を行った。術前にトリガーの発生部位を同定し、不整脈源性もしくは非不整脈源性肺静脈（対側肺静脈）から心房側への2 zones (zone 1: < 5 mm, zone 2: 5-15 mm) でCFEs・DFを比較した。

【結果】High DF (>8.0 Hz), continuous CFEs (mean CFEs <50 ms) の局在を検討した結果、大部分のhigh DF領域 (31/36, 86%) とcontinuous CFEs領域 (40/52, 77%) は、肺静脈の周囲に存在し、high DF領域の75% (27/36), continuous CFEs領域の54% (28/52) は不整脈源性肺静脈に関連して存在した。肺静脈トリガー部からhighest DF siteそしてmaximal CFEs siteまでの距離は15 mm以内に全例存在した。

【結論】心房細動に対する肺静脈隔離術の際には、心房細動基質の解析結果をもとに周囲の異常心房基質とともに拡大隔離する必要があるものと考えられた。

## 8. New method for absolute spinal cord ischemia protection in rabbits (ウサギでの新しい絶対的脊髄虚血保護法)

Bagus Herlambang  
展開医科学専攻病態制御医科学講座  
(外科学)

【目的】本研究では、ウサギ脊髄虚血モデルを用い、脊髄傷害を防ぐために脊髄の局所低体温と分節遮断した大動脈内へのラジカル・スカベンジャーの注入の相乗効果を検討した。

【方法】大動脈を腎動脈直下から分岐部直上まで30分間遮断したウサギ脊髄虚血モデルを用いた。ウサギは4群に分けた（各群n=16）。

I： シャム群

II： エタラボン群

III： 生理食塩水と経脊椎冷却パッド併用群

IV： エタラボンと経脊椎冷却パッド併用群

術後の評価は再灌流8時間、24時間、48時間、168時間後にTarlov scoreを用いて神経学的に評価し、再灌流48時間と168時間後に脊髄前索における神経細胞を病理組織学的に評価し、脊髄組織におけるマロングアルデヒド濃度を測定した。

【結果】IV群では、再灌流168時間後まで後肢運動機能は温存され、遅発性神経障害を認めなかった。

【結論】経脊椎冷却パッド及び分節遮断した大動脈内への冷却エタラボンの注入の併用によって脊髄は効果的に保護された。

## 9. Survey of aorta and coronary arteries with prospective ECG-triggered 100-kV 64-MDCT angiography

(100kV心電図同期コンベンショナルスキャンを用いた大動脈および冠動脈撮像法の評価)

藤岡 知加子  
展開医科学専攻病態情報医科学講座  
(放射線診断学)

本研究の目的は、管電圧100kV心電図同期コンベンショナルスキャンにより大動脈の検査と同時に冠動脈・大動脈弁の評価を同時に行うことが可能であるか、また被曝線量を検討する事である。

大動脈弁および上行大動脈が評価可能であった症例は、それぞれ97%, 100%であった。冠動脈は98%であった。造影効果は診断に必要とされるCT値の200HU以上であった。評価できた病変は冠動脈では50%以上の血管内腔の有意狭窄が5例、カルシウムプラーク21例、myocardial bridgeが12例、右冠動脈の起始異常が1例、大動脈弁では石灰化16例、二尖弁が1例みられた。X線被曝量は $7.5 \pm 1.7$  mSvであった。

100kV心電図同期コンベンショナルスキャン法を用いた大動脈CTAは、被曝、大動脈アーチファクトの軽減、大動脈弁や冠動脈に関する付加的情報の取得等の有用性があり、積極的に使用すべき方法と考えられた。

## 10. Estimation of background radiation doses for the Peninsular Malaysia's population by ESR dosimetry of tooth enamel

(歯エナメルのESR線量測定法によるマレーシア

半島住民にさらされたバックグラウンド放射線量の予測)

Mohd Rodzi Bin Ali

展開医科学専攻病態情報医科学講座  
(線量測定・評価研究分野)

本研究の目的は、歯によるマレーシアでのバックグラウンド線量を測定することやマレーシア半島住民の医療被ばく線量を調査することである。歯科治療の際摘出された歯または保存されていた歯を収集し、2008年の12月から2009年の3月までにかけて、48個の6番から8番までの臼歯を13地域の病院から収集した。歯の位置、表面、X線使用回数のデータが各病院の歯科レポートや歯医者による記録から収集された。36本の歯が非照射状態にあった一方、12本が抜歯前あるいは治療最中に直接的に1回X線を使用したことが判明した。歯のサンプルは二つのグループすなわち頬側と舌側に分割した。歯のエナメル質は標準ガンマ線を用いて、校正した線量計を用いて測定しながら照射した。マレーシア半島の1年間の個人のバックグラウンド線量を、吸収線量と歯のエナメルの年齢との線形回帰分析によって推定した。その結果、現在のマレーシア半島の予想されるバックグラウンドの線量は  $0.58 \pm 0.32 \text{ mGy y}^{-1}$  であった。

11. Neoplastic transformation by TERT in FGF-2-expanded human mesenchymal stem cells

(FGF-2添加で長寿命化したヒト間葉系幹細胞はTERTによって悪性腫瘍化する)

山岡 絵美

展開医科学専攻病態制御医科学講座  
(自然科学研究支援開発センター)

健康成人ドナーの骨髓液よりヒト間葉系幹細胞(hMSCs)を分離し、FGF-2を添加し共培養すると *ex vivo* で長期培養が可能であった。hMSCsにTERT発現ベクターを導入すると、細胞形態も分裂速度も導入前と変化のない状態で不死化した。

TERT導入hMSCsと、導入前、およびベクターのみ導入のhMSCの間で、テロメア長、テロメラーゼ活性、多分化能、ソフトアガー中でのコロニー形成能力、免疫不全(NOD-SCID)マウスでの腫瘍形成能の比較を行った。導入前のhMSCsではテロメラーゼ活性は検出されず、不死化hMSCsにALT機構が存在しており、これらは多分化能も保持していた。TERT導入hMSCsではコロニー形成能が上昇し、免疫不全マウスモデルで造腫瘍性が高まり、腫瘍は病理組織学的に悪性像で、hMSCsにおいてTERTは悪性転化の一因子と考えられた。これらの細胞は、少数の細胞で造腫瘍性を得られたことから成人幹細胞に由来するがん幹細胞モデルを提供し、ヒト幹細胞の悪性化にテロメラーゼ活性化が作用している可能性を示した。