

第530回 広島大学医学集談会：No. 7

第41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11月10日）

1. Evaluation of rebound tonometer for measuring intraocular pressure at deviated angle and position
（リバウンドトノメーターの測定する角度や位置がずれたときの測定眼圧値への影響）

竹中 丈二
創生医科学専攻先進医療開発科学講座
（視覚病態学）

リバウンドトノメーター（RBT）という手持ち型の眼圧測定器がある。それが理想的な測定条件からずれたときに測定値が信頼できるかを家兎とヒトで調べた。家兎で測定距離を 4, 6, 8 mm に変えて角膜中央で眼圧を測定した。次に角膜中心から 2 mm 耳側で視軸に平行に測定した。最後に角膜中心で視軸から 10 度あるいは 20 度ずらして測定した。測定値はどの条件でも真の眼圧値と強い相関があるが真の眼圧よりも低かった。視軸から 20 度ずれたときが最もばらつきがあった。

次にヒトで同様に測定した。測定条件は距離を 4, 6, 8 mm にする場合と、中心から 10 度、20 度ずれの場合は家兎のときと同じである。測定位置を横にずらす条件は家兎と違い角膜の輪部から 2 mm 耳側と鼻側で測定し、角膜に垂直の場合と、視軸に並行の場合を調べた。RBT は上記のような条件でもばらつきが少なかった。しかし各条件での測定値の平均を比較すると角膜に対して垂直に測定していない時は有意に低い値だった。

2. Mutated p.4894 RYR1 function related to malignant hyperthermia and congenital neuromuscular disease with uniform type 1 fiber (CNMDU1)
（悪性高熱症と CNMDU1 に関連した 1 型リアノジン受容体の 4894 番目のアミノ酸変異がもたらす機能変化）

原木 俊明
展開医科学専攻病態情報医科学講座
（麻酔蘇生学）

悪性高熱症の患者で 1 型リアノジン受容体（RyR1）の 4894 番目のアミノ酸であるアラニンがスレオニン（Ala4894Thr）に変異しているとの報告がある。一方、Congenital Neuromuscular Disease with Uniform Type 1 Fiber (CNMDU1) の患者では RyR1 の 4894 番目のアミノ酸であるアラニンがプロリン（Ala4894Pro）に変異しているとの報告がある。

そこで、報告された変異 RyR1 遺伝子を作成し、HEK-293 細胞に導入した。遺伝子導入した細胞に RyR1 のアゴニストであるカフェインを負荷し細胞内カルシウムイオン濃度の変化を観察した。

Ala4894Thr はカフェインに対する感受性が亢進していたことから、悪性高熱症の発症原因となる遺伝子異常と考えられた。Ala4894Pro は反応を示さなかったことから CNMDU1 の発症に関連していると考えられた。

RyR1 の 4894 番目の異なるアミノ酸変異によって、受容体の異なる機能異常がもたらされる。

3. Statins induce apoptosis and inhibit proliferation in cholangiocarcinoma cells
（Statin は胆管癌細胞株を Apoptosis に導き、増殖を抑制する）

神垣 充宏
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）

胆管癌は予後不良であり、有効な治療法の確立が急務である。HMG-CoA reductase 阻害剤（Statin）は潜在的に抗癌効果を持つといわれるが、胆管癌では未だ報告されていない。今回、胆管癌に対する Statin の有用性を研究した。

WST-8 assay にて、Statin の曝露によるヒト胆管癌細胞株 HuCCT1・YSCC の増殖抑制効果を認めた。FACS では G2M 分画の減少、sub G1 分画の増加を認めた。Western Blotting では Cleaved caspase-3 の増加、p-ERK の減少を認めた。また WST-8 assay にて、Statin の Gemcitabine, Cisplatin, 5Fu との併用による相加的増殖抑制効果を認めた。

本研究により、Statin は胆管癌細胞株を古典的 MAPK 経路の抑制を介して Apoptosis に導く事、既存の抗癌剤の効果を増強する事が判明した。

4. Detection of large expansions in SCA8 using a fluorescent repeat-primed PCR assay (repeat-primed PCR 法による SCA8 における異常伸長の検出)

田中 英司

展開医科学専攻病態情報医科学講座
(分子疫学研究分野)

脊髄小脳変性症 8 型 (SCA8) は比較的緩徐に進行する小脳失調を主徴とした神経変性疾患で、常染色体優性遺伝を呈し、臨床症状は多彩である。その遺伝子変異は *ATXN8OS/ATXN8* 遺伝子における CTG/CAG リピートの異常伸長として同定された。遺伝子診断は PCR 法とサザンブロット解析を組み合わせて行われてきたが、操作が煩雑で時間もかかるため簡便なスクリーニング法が望まれていた。そこで本研究は、Werner らの手法を基に SCA8 の repeat-primed PCR 法による CTG/CAG リピートの異常伸長の検出法を確立した。1 回の PCR 反応を施行するだけで、異常リピートの有無の判定が可能であり、SCA8 のリピートの伸長の検出において、鋭敏で簡単・迅速なスクリーニング検査が可能となった。

5. Identification of Epstein-Barr virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer (Epstein-Barr virus-induced gene 3 は肺癌の新規血清・組織バイオマーカー及び治療標的分子である)

西野 亮平

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(分子内科学)

肺癌は癌死の原因の第一位であり治療成績は悪く、早期診断マーカーおよび新規治療の開発が急務である。我々は肺癌および正常臓器の cDNA マイクロアレイ発現解析より、肺癌で発現上昇しかつ正常臓器での発現が低い遺伝子の同定を試み、Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) という遺伝子を同定した。非小細胞肺癌手術検体組織アレイの免疫染色で EBI3 が強く染色される症例は予後不良であった。また ELISA による検討で血清 EBI3 は肺癌患者で高値

であり、腺癌における CEA、扁平上皮癌における CYFRA21-1 と比較し優れた診断マーカーであった。また肺癌細胞株に siRNA で EBI3 をノックダウンした結果、細胞増殖が抑制され、EBI3 は細胞増殖に関わる分子と考えられた。以上の結果より EBI3 が組織予後マーカー・血清診断マーカーおよび治療標的分子として有望であると考えられた。

6. Association of airway inflammation with asthma control level evaluated by the Asthma Control Test

(Asthma Control Test で評価した喘息コントロールレベルと気道炎症の関連)

塩田 直樹

展開医科学専攻病態制御医科学講座
(分子内科学)

【目的】喘息患者の症状コントロールレベルと気道炎症の関連を調べる事を目的とした。

【方法】ACT (Asthma Control Test) と誘発喀痰採取を同時に行った。

【結果】ACT 総得点により症状コントロール良悪に分類し喀痰好酸球比率、喀痰好中球を比較したところ、どちらも有意な差を認めなかった。ACT を構成する質問のうち、夜間症状に関するスコアのみが喀痰好酸球比率と有意な相関を示し、夜間症状の頻度が高い症例で好酸球比率が高かった。また SABA 吸入頻度に関するスコアのみが喀痰好中球比率と有意な相関を示し、SABA 吸入頻度が高い症例でより好中球比率が高かった。

【結論】ACT により評価した喘息症状コントロールレベルの良悪は喀痰好酸球比率、喀痰好中球比率の高低と関連しなかった。しかし、ACT を構成する質問のなかで夜間症状の頻度は喀痰好酸球比率と、SABA 吸入の頻度は喀痰好中球比率と有意な関連を示した。

7. Comparative histological study of levels 1-3 supportive tissues using pelvic floor semiserial sections from elderly nulliparous and multiparous women (未産婦と経産婦の女性骨盤底準連続切片を用いた DeLancey のレベル 1-3 における骨盤底支持組織の研究)

平田 英司

医学系研究科 博士課程 外科系専攻

女性骨盤解剖体 17 体（未産婦 8 体，経産婦 9 体）を使用し，骨盤底支持組織における DeLancey 理論によるレベル 1 から 3 の準連続切片を作成し，組織学的に検索した。その過程でレベル 1 に新たな結合組織を認め，これを子宮頸部－坐骨棘間結合組織（uterospinous connective tissue；USCT）と命名した。

USCT は未産婦で密な厚いメッシュ様構造を呈し，経産婦では菲薄化していた。しかし骨盤筋膜腱弓を含むレベル 2，会陰膜を含むレベル 3 の組織構造は何れも分娩歴による差を認めなかった。

この USCT の損傷が，経産婦により多く認められる骨盤臓器脱の一つの原因と推察される。また本研究は，近年 DeLancey 理論に基づいて開発され普及してきた Tension-free vaginal mesh（TVM）手術の理論を支持するものである。

8. Stem/progenitor cells in closed suction drainage fluid after hip arthroplasty （人工股関節置換術後閉鎖式ドレナージ回収血における自己由来幹細胞源としての研究）

世良 哲
展開医科学専攻病態制御医科学講座
（整形外科学）

組織損傷の際に損傷部位への幹細胞の集積には，SDF-1/CXCR4 システムが重要な役割を果たしている。CXCR4 は幹細胞にも発現しており，手術侵襲後の閉鎖式ドレナージ回収血には CXCR4 陽性自己由来幹細胞が含まれると予想され，本研究では回収血の幹細胞供給源としての可能性を検討した。

人工股関節施行患者 14 例より術前の末梢血，骨髓液，ドレナージ回収血を手術当日，術後 1 日目，術後 2 日目に採取した。単核球分画を比重遠心法にて分離し，ドレナージ回収血中の CXCR4 陽性細胞を解析す

ると，手術当日および術後 1 日目で，統計学的に有意に増加していた。また血漿中 SDF-1 濃度はドレナージ回収血では手術当日に術後 2 日目よりも統計学的に有意に上昇していた。手術当日のドレナージ回収血は，コロニー形成能をもっており，骨および軟骨分化を確認できた。

本研究により術後ドレナージ回収血を用いることで新たな侵襲を加えることなく再生医療応用に有効な細胞源になり得る可能性が示された。

9. Identification of therapy-sensitive and therapy-resistant neuroblastoma subtypes in stages III, IVs and IV （Ⅲ期，IVs 期，IV 期神経芽腫に対する「治療成績良好群」と「治療成績不良群」の識別）

許 洋子
展開医科学専攻病態情報医科学講座
（小児科学）

本研究では多様性をもつⅢ期，IVs 期，IV 期神経芽腫に対し，腫瘍性状予測感度の高い新たなリスク識別法を後方視的に検討した。リスク因子として有用性，独立性の示された MYCN 遺伝子増幅，国際神経芽腫病理分類（INPC）Unfavorable Histology，Ha-ras/trkA 低発現はそれぞれ単一のリスク因子では予後不良例の検出感度は不十分であったが，3 因子を組み合わせにより分類された High risk 群では予後不良例の 86% が検出可能であった。さらにリスク因子の総数により Triple risk 群，Double risk 群，Single risk 群，No risk 群に分類すると，4 群の生存率には有意差が認められ，「治療成績不良群」と「治療成績良好群」に識別可能であった。本研究で示されたリスク識別法は診断時の腫瘍性状に基づく治療強度選択に寄与するものと考えられた。