

第139回 東邦医学会例会

平成24年2月10日(金) 午後1時～午後6時07分
東邦大学医学部大森臨床講堂(5号館B1)

A. 平成22年度プロジェクト研究報告

1. 皮膚組織修復における間葉系前駆細胞 fibrocyte の誘導機構と血管特異性

猪股直美, 岡田恵美, 遠藤剛史
(大森形成外科)

組織修復を実行する線維芽細胞の一部は骨髄由来間葉系前駆細胞 (fibrocyte: Fb) 由来と考えられるが, その誘導機構は不明である。今回は正常ヒト皮膚組織修復過程における CD34, LSP-1, procollagen-I の二重染色で同定される Fb の発現様式を検討した。Fb は血管内外で異なる発現様式を有し, 特に血管内 Fb の分化誘導には細小動静脈における CXCR4-CXCL12 の発現関与が示唆された。

Keywords: fibrocytes, wound healing, arteriole

2. 卵細胞のアポトーシスにおける細胞周期の停止機構

土屋勇一, 三宅早苗(生化学)

増殖細胞がアポトーシスを起こすと細胞周期が停止するが, そのメカニズムは不明な点が多い。われわれはアフリカツメガエル卵抽出液を実験系として用い, アポトーシスにおける細胞周期の停止機構を解析した。初期発生細胞周期を進行させた状態の卵抽出液に, 外部からシトクローム c を添加して強制的にアポトーシスを誘導したところ, 分裂期を誘導するキナーゼである Cdc2 が活性化せず, 細胞周期は約1時間後に間期で停止した。Cdc2 が活性化するためには, 新規に翻訳されたサイクリン B と結合して, さらに Cdc2 の Tyr15 が脱リン酸化されることが必要である。しかしアポトーシスを起こした卵抽出液ではサイクリン B の翻訳が停止しており, また Tyr15 を脱リン酸化する Cdc25C もカスパーゼによって切断され不活性化していた。したがって卵抽出液がアポトーシスを起こすと, Cdc2 の活性化が二重に阻害され分裂期に進行できなくなったと

推測された。

Keywords: apoptosis, cell cycle, *Xenopus* egg extracts

3. マウス卵母細胞における DNA 複製開始機構の解析

村井 晋 (生化学)
福田雄介 (大森産科婦人科)

マウス受精卵において染色体複製開始には新規蛋白質の発現が不可欠である。アフリカツメガエル卵母細胞において染色体複製開始のトリガーとして Cdc6 が同定された。われわれは Cdc6 がマウス卵母細胞において染色体複製のトリガーとなりうるかについて検証した。マウス卵母細胞での RNA interference (RNAi) による Cdc6 の発現ノックダウンは受精後の染色体複製にも胚発生にも影響を与えなかったことから染色体複製のトリガーとはなり得ないと結論した。さらにマイクロアレイによる遺伝子発現の網羅的解析から Cdc6 にかわる哺乳類でのトリガーの候補として Orc6 を同定した。Orc6 の発現ノックダウンによって受精後の染色体複製開始の効率が約 50% に減少した。また受精後の 2 細胞期への進行も大きく遅延した。以上の結果から哺乳類卵母細胞において染色体複製のトリガーは Orc6 でありその卵成熟中の発現が染色体複製を介してその後の胚発生に重要であると結論した。

Keywords: chromosome replication, mouse zygote, maternal gene expression

4. 心房筋における脂質結合蛋白質を介した L 型 Ca²⁺ チャネルの新規な制御機構

中瀬古寛子 (薬理学)
リシャン ウル クライシュ (生体構造学)

脂質結合蛋白質 steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) は

心臓では心房のみに発現し、心房でL型Ca²⁺チャンネルCav1.2と結合することが確認された。そこで野生型とSTARD10 knockout (KO) マウスを用いて、心房筋特異的なSTARD10によるL型Ca²⁺チャンネルの制御の解明を本研究の目的とした。その結果、単離心房筋の拍動数はKOマウスで野生型に比べ優位に高く保たれた。またKOマウスの単離心房筋細胞では野生型に比べCav1.2のチャンネル電流密度が有意に増大したが、蛋白質の発現量に差はなかった。細胞内遊離Ca²⁺濃度上昇に伴うL型Ca²⁺チャンネルの電流密度の減少と電流の不活性化の開始時間の短縮はKOマウスでより顕著であった。以上より、KOマウスの単離心房筋ではL型Ca²⁺チャンネル電流の不活性化が早まり、活動電位幅が短縮し、拍動数が高く維持されたと推察される。よってSTARD10はL型Ca²⁺チャンネルのCa²⁺感受性の制御に関与することが示唆された。

Keywords : L-type Ca²⁺ channel, atria, lipid-binding protein

5. 脂質結合蛋白質複合体を介した脂質代謝調節機構についての解析

伊藤雅方 (薬理学)
小田哲子 (微細形態学)

脂質結合蛋白質であるsteroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10)の機能解明のため、ノックアウトマウス(*Stard10*^{-/-})の解析を行った。STARD10は肝臓において特に高発現を示し、その局在は肝細胞の毛細胆管側でより強かった。*Stard10*^{-/-}マウスは野生型マウスと比較して高脂肪食負荷による肝臓の肥大の程度が小さく、コレステロールおよび中性脂肪の含有量も低かった。そこで、野生型および*Stard10*^{-/-}マウスの胆汁酸を比較解析したところ、*Stard10*^{-/-}マウスの肝臓においてコール酸の含量が低下し、より胆汁への分泌が起こりやすいケノデオキシコール酸および抱合型胆汁酸の含量が増加していた。また、*Stard10*^{-/-}マウスの肝臓において小腸内の細菌により生成される二次胆汁酸の含量が低下していた。よって、小腸における胆汁酸再吸収の低下が推察され、実際に*Stard10*^{-/-}マウスの糞便中への胆汁酸の排泄が増加していた。これらのことからSTARD10の胆汁酸の抱合、分泌、再吸収への関与が示唆された。

Keywords : steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10), bile acid, enterohepatic circulation

6. 新規脂質結合蛋白質を介した心房筋における副交感神経活性および心拍リズム制御

丸山博子, 古川勝雄 (薬理学)

われわれは、心拍リズム調節における脂質結合蛋白質の役割を明らかにする目的で、生体内および摘出心房筋における自律神経作動薬の作用を、野生型マウス(WT)と新規脂質結合蛋白質STARD10欠損マウス(KO)で比較検討した。ムスカリン受容体作用薬(carbachol)による心拍数低下作用は、WTと比較してKOで有意に減弱していた。心房筋におけるムスカリンM2受容体の細胞内局在をショ糖密度勾配遠心細胞分画法により検討したところ、M2受容体およびcaveolae/lipid raft構成蛋白質の局在がWTとKOで異なっていた。Caveolaeは膜蛋白質の局在や細胞内シグナル伝達の調節に関わる細胞膜陥入構造である。以上の結果から、STARD10の欠損によりcaveolae/lipid raftの構造およびM2受容体の局在が変化し、carbacholに対する応答が減弱したと考えられる。

Keywords : atria, lipid metabolism, signaling

7. 概日時計を制御するキナーゼCK2の活性振動機構の解析

田丸輝也 (細胞生理学)
眞野容子 (微生物・感染症学)

概日リズムを司る体内時計の分子機構を、転写因子・修飾酵素に焦点をあてて研究を進めてきた。これまでa)時計蛋白質BMAL1を時刻依存的にリン酸化する日周変動キナーゼCK2を発見し、b)CK2が、BMAL1の日周性修飾をその上流において閥門制御し、日周性シグナリングを統括制御することを明らかにした。

時計変異体CRY1/2-KO細胞において、BMAL1-S90のCK2によるリン酸化活性変動が損なわれ、CK2のサブユニット(α, β)に時計蛋白質(CRY1/2, PER1-3, CLOCK, BMAL1)が異なるパターンで結合し、CK2α触媒のみでBMAL1リン酸化がおき、βで阻害されることを見いだした。さらに解析を進め、CRY1/2-KO細胞において損なわれているBMAL1-S90リン酸化の概日変動が、CRY1/2を発現させることで回復し、CK2サブユニットと時計蛋白質との時刻依存的結合が活性変動のカギを握っていることを示した。

Keywords : circadian, phosphorylation, protein kinase

8. 内在性神経幹細胞遊走能活性化分子の機能解析

浜之上誠 (細胞生理学)
原科純一 (第2脳神経外科)

喪失した脳機能回復のために中枢神経系に内在する神経幹細胞を活性化するための治療法は、体外で増殖させた胚性幹細胞の移植法に匹敵する有望な治療法と考えられる。そこで今回われわれは、神経幹細胞の更なる活性化を誘導するため、神経幹細胞が盛んに増殖・遊走する時期に多く発現する p38MAP キナーゼ (p38) に着目し、まずは遊走能誘導効果について解析した。その結果、マウス成体大脳より調整した培養神経幹細胞に細胞内導入型の p38 ドミナントアクティブ蛋白質 (PTD-DA) を添加したところ、移動細胞数が著明に増加することを見いだした。この移動誘導活性は p38 特異的阻害剤で阻害され、さらにキナーゼ活性を持たない p38 や細胞膜透過性を持たない p38 添加では示されなかったことから、細胞膜透過性の PTD-DA が著明な遊走能亢進効果を持っていると考えられた。現在、神経幹細胞遊走能亢進効果の作用機序について詳細な解析を進めている。

Keywords : neural stem cells, p38 MAP kinase, cell penetrating peptide

9. 内側膝状体への GABA 性投射神経細胞の免疫組織化学的研究

高柳雅朗, 小川麻里子 (生体構造学)

聴覚伝導路において、モルモットの聴視床である内側膝状体は下丘および視床網様核から gamma-aminobutyric acid (GABA) 性の抑制性投射を受けると考えられている。この GABA 性投射神経細胞が構築する神経回路の解剖学的知見を得るため、抗 GABA 抗体および抗 parvalbumin (PV) 抗体を用いて蛍光二重免疫組織化学的手法により検討した。内側膝状体に散在する GABA 免疫陽性細胞は PV 免疫陰性であった。PV 免疫陽性細胞は観察されなかった。内側膝状体に広がる GABA 免疫陽性線維は PV 免疫陽性と PV 免疫陰性とがあった。視床網様核の PV 免疫陽性細胞は GABA 免疫陽性であった。下丘では、GABA および PV に免疫陽性の細胞と、片方に免疫陽性の細胞が観察された。視床網様核の GABA および PV を含有する神経細胞が内側膝状体に投射し、下丘の GABA 含有神経細胞は PV を含有する細胞としない細胞とが内側膝状体に投射することが示唆された。PV を含有し GABA を含有しない細胞は内側膝状体に投射しないことが示唆された。

Keywords : medial geniculate complex, gamma-aminobutyric acid, parvalbumin

10. 神経細胞における軸索発生の機構解明について

井上由理子, 青柳里沙 (生体構造学)

Synaptotagmin1 は、神経細胞の軸索にのみ存在するカルシウム・リン脂質タンパク質として知られている。しかし、その詳細な機能については、明らかにされていない。今回、synaptotagmin1 の神経細胞への大量発現による軸索形成への影響を検討した。

ラット胎児の海馬から初代培養神経細胞を作成し培養を行い、培養下における正常な神経細胞の軸索と樹状突起の形状を確認した。次に、synaptotagmin1 を神経細胞に大量発現させ、形態変化を調べた。その結果、本来神経細胞に1本だけ形成される軸索が複数本みられ、軸索の分岐も多くみられることが観察された。以上のことから synaptotagmin1 は、神経細胞の軸索発生前に重要な役割を担っていることがわかった。

Keywords : synaptotagmin1, axon, hippocampus

11. 可溶性蛋白質抗原の免疫により惹起される免疫反応の解析

田中ゆり子 (免疫学)
山崎有浩 (大森一般・消化器外科)

通常、可溶性蛋白質抗原のみをアジュバントを用いずに生体に免疫すると、生体内での免疫反応はほとんど起こらないとされている。しかし、ケモカイン CCL19 と CCL21-ser の発現欠損マウス (plt) では、可溶性蛋白質抗原のみを免疫した場合でも抗体産生反応が誘導された。野生型マウスに可溶性蛋白質抗原のみを免疫すると、所属リンパ節では抗原提示細胞によりナイーブ T 細胞へ抗原提示がおこなわれ、増殖が認められた。しかし初回免疫時に所属リンパ節内で増殖した T 細胞は、二次的な抗原刺激に対して反応せず、増殖もサイトカイン産生も認められなかった。一方、plt マウスの場合、可溶性蛋白質抗原のみの免疫でも、アジュバントを用いた免疫と同様に T 細胞の増殖、サイトカイン産生と抗体産生が認められた。ケモカイン CCL19, CCL21-ser の機能と可溶性蛋白質抗原に対する T 細胞反応との関係については現在解析中である。

Keywords : plt mice, soluble protein antigen

12. 肺高血圧症におけるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) の関与

太田宏樹 (大森呼吸器内科)
嶋田博光 (第1小児科)

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) による体血管の収縮制御は S1P_{1,2,3} 受容体を介していることが知られているが、

肺血管における収縮機序はほとんど不明である。ラット生理的食塩水還流肺において、S1P 継続投与による持続的肺血管収縮はVPC23019 (S1P_{1,3}受容体阻害薬) またはJTE013 (S1P₂受容体阻害薬) により抑制されず、S1P₄受容体作動薬のphytophingosine-1-phosphate (PhS1P) ならびにVPC23153により肺血管収縮を認めた。慢性低酸素誘発肺高血圧ラット肺では、S1P ならびにVPC23153による血管収縮作用の著明な増強を認めた。ラット肺動脈中膜で免疫組織学的にS1P₄受容体蛋白が確認され、肺動脈摘出検体でS1P₄受容体のmRNAも検出された。ラット肺循環ではS1Pによる肺血管収縮にS1P₄受容体が関与していることが示唆された。

Keywords : pulmonary hypertension, sphingosine-1-phosphate (S1P)

13. Aβ42 脳室内注入ラットにおける膨大部後皮質のインターニューロンとα7nAChRの影響

村上邦夫 (生体構造学)
五十嵐広明 (微細形態学)

ラット膨大部後皮質顆粒部 (RSg) において、GABAergic interneuron に局在するα7ニコチン性アセチルコリン受容体 (α7nAChR) の検証と、amyloid-β42 (Aβ42) 脳室内持続投与がもたらすα7nAChR, GABA陽性neuropileとsynaptic terminal数の変動を多重免疫蛍光染色法と定量解析から検討した。

Alexa488標識α-ブングロトキシン (α7nAChR) はGABA陽性細胞の細胞体、neuropileに分布していた。Aβ42投与から、海馬CA1のみならずRSgにおいてもα7nAChR部位にAβ42の高い発現を観察し、I層のα7nAChR, GABA陽性neuropileとsynaptic terminal数の減少を誘発した。

RSgに放出される前脳基底部由来のアセチルコリンはα7nAChRを介してGABAergic neuronの活動制御に関係すること、そしてAβ42はα7nAChR結合を通して、α7nAChRの失活、シナプスの損失に影響をもたらすことが示唆された。

Keywords : amyloid-β42, α7 nicotinic acetylcholine receptor, retrosplenial granular cortex

B. 一般演題

14. 尿膜管癌との鑑別に苦慮した尿膜管膿瘍の1例

笠原瑞希, 岡 祐輔, 山辺史人, 上村修一
高杉啓一郎, 小林秀行, 田中祝江, 鈴木九里
永尾光一, 中島耕一 (大森泌尿器科)
石渡誉郎, 根本哲生, 渋谷和俊 (大森病院病理学)

82歳男性。腹痛あり近医受診。Computed tomography (CT)で、下腹部に前立腺癌疑う腫瘤あり当科紹介。発熱、炎症反応上昇あり、画像検査では前立腺異常なし、膀胱より上方に腫瘤あり、尿膜管膿瘍、あるいは尿膜管癌の感染合併と考え、入院のうえ、抗生剤加療した。炎症反応改善後のCTで下腹部腫瘤は著変なく、尿膜管癌を疑い尿膜管癌切除術を施行した。手術時、回腸浸潤、膀胱浸潤を認め、回腸合併切除および膀胱部分切除を行った。病理組織像では、尿膜管に炎症細胞の浸潤や毛細血管、繊維芽細胞の増生を認めるが、異型細胞は認めず、膀胱粘膜、回腸にも異型細胞はなく、炎症細胞の浸潤のみであった。以上より尿膜管膿瘍と診断した。尿膜管遺残は成人の約2%に認められ、まれに膿瘍形成や悪性腫瘍の発生が報告される。尿膜管膿瘍の発症年齢は平均42歳、臨床症状は腹痛、臍部からの排膿、発熱が多い。本症例は年齢、術中所見より尿膜管癌が強く疑われたが、病理組織診断で尿膜管膿瘍と診断した。尿膜管癌との鑑別に苦慮した尿膜管膿瘍の1例を経験したので報告した。

Keywords : urachal abscess, urachal cancer, enterocoele infection

15. 他院植立インプラントトラブルの臨床的検討

塚越 好, 藤本慶子, 堀江彰久, 福井暁子
工藤泰一, 関谷秀樹 (口腔外科)

咀嚼機能回復においてインプラント (人工歯根) 治療は大変有用であるが、同時にトラブルも多発している。2008年4月~2012年1月の約4年間に、他院で施術されたインプラントによるトラブルを主訴に来院した18名を原因・症状別に検討を行った。その結果、脱落原因では、インプラント周囲の不具合が10例と最も多かった。症状の内訳では疼痛・歯肉腫脹・排膿・歯肉出血、知覚神経麻痺などがあり、その約4割は、炎症の感染源除去目的、神経麻痺の原因除去のため摘出転帰となった。また、トラブル症例の多くは術後のメンテナンスを術者、患者の相互で怠り、経過観察を行っていなかった。

Keywords : dental implant, trouble case, clinical studies

16. 左側頭部難治性炎症にて発症した幼児側頭部 epidermoid の 1 例

根本匡章, 原田雅史, 福島大輔, 北島 悟
野本 淳, 近藤康介, 原田直幸, 周郷延雄
(第 1 脳神経外科)

1 歳 4 カ月女児. 主訴は左側頭部腫脹で発熱を伴い抗生剤内服も解熱せず, 頭部 computed tomography (CT) を施行したところ左側頭骨板間層の病変を中心とした側頭筋の腫脹を認めた. Magnetic resonance imaging (MRI) では病変は T1 で low, T2 では high で造影効果は認めなかった. 手術で左側頭骨病変部を切除した. 病理は層板状のケラチン化を認め epidermoid と診断された. 術後炎症

所見は改善したが 1 カ月後に再度左側頭部の腫脹と発熱を認めたため, 排膿および洗浄を行いその後は順調に経過している.

Epidermoid は原発性脳腫瘍の 0.3~1.5% とまれな腫瘍である. 症状は側頭骨の場合緩徐に増大する頭皮の無痛性腫脹である. 治療は外科的全摘出が基本である.

左側頭部炎症にて発症した幼児側頭骨 epidermoid のまれな 1 例を経験した. 手術で肉眼的全摘出されても再発する可能性があるため, 慎重に経過を見る必要性があると考えられた.

Keywords : intradiploic epidermoid, skull tumor, infection