

後を規定している可能性が示唆された。

2. 腎尿細管における Na/K ATPase の遺伝分子生物学的解析—Competitive PCR 法の応用と病態生理への関わり—

(第四内科学) 土谷 健

腎集合尿細管における Na/K ATPase は生体の体液、電解質バランスに重要な役割を演じている。腎は細胞構築が複雑なため、各ネフロンセグメントでの動態や調節機構の解明が困難であった。今回、単離した集合尿細管での酵素活性を fluorometric 法で、mRNA の変化を reverse-transcription-PCR 法で測定し、アルドステロンによる生理的調節と疾患モデルでの病態生理を検討した。PCR 法による mRNA の定量には deletion mutation により人為的に作製した内因性スタンダードを同時に増幅する competitive PCR 法を行った。rat 単離皮質集合尿細管で両側副腎摘によるアルドステロン欠損状態では酵素活性は約60%低下し、 $\alpha 1$ subunit mRNA は54%低下したが、 $\beta 1$ subunit には変化が認められなかった。この変化は外因性のアルドステロン負荷により回復した。一方、この測定系を多発性嚢胞腎疾患モデルである diphenylthiazole 起因性 rat に応用した。嚢胞腎の形成には Na/K ATPase の mislocaton など尿細管上皮の輸送異常の関与が指摘されているが、嚢胞を形成した集合尿細管では同酵素活性の亢進が認められたが、mRNA の変化はみられず異なる刺激因子の存在が示唆された。Na/K ATPase の活性および mRNA の動態を単離した尿細管レベルで観察し得た。今後はさまざまな病態生理への関与を検討している。

3. B 型肝炎ウイルスに見られる突然変異と病態の多様性との関連

(消化器内科学) 長谷川潔

B 型肝炎にはその病態に多様性が認められる。急性肝炎のほとんどは予後良好であるが、一部は劇症肝炎となり致命率の極めて高い、激烈な経過をたどる。慢性肝炎は進行すると肝硬変へと移行するが、その経過中、一般には、HBe 抗原の有無により重症度が予測でき、HBe 抗原が消失すると肝炎は鎮静化することが多い。この HBe 抗原から HBe 抗体への変化は、若年者で自然に起こることが多く、成人まで HBe 抗原陽性の場合、インターフェロン投与の際の治療目標となっている。また、B 型肝炎ウイルスに感染していても全く肝に病変が起こっていないことがあり、この状態を無症候性キャリアと呼称しているが、長期間、無症候

性キャリアであったものが、ある時点から肝障害を呈することがある。慢性肝炎の多くは、たとえトランスアミナーゼが上昇していても、自覚症状もなく、通常の世界生活を営める程度であるが、ある時点から急速に肝障害が進行し、劇症化することがある。慢性肝炎が劇症化したときは、急性感染による劇症肝炎に比べ予後がさらに悪い。

このような B 型肝炎の病態の多様性は、ウイルス側と、免疫系を主とした宿主側の各々の要因の相互作用により規定されていると考えられる。我々はウイルスの遺伝子解析を行うことにより、まずこれらの要因のうち、ウイルス側の側面から B 型肝炎の様々な病態の説明を試みた。

4. インスリン自己免疫症候群 (IAS) に関する研究 (糖尿病センター) 内瀧安子

インスリン自己免疫症候群 (IAS) は、1970年に平田らが世界で初めて報告した症候群である。本症候群は自己のインスリンに対する高力価の自己抗体が産生されることが特徴である。平田らの最初の報告後、現在までに200例近くの報告を数える。一方海外からの報告は限られており、僅かに16例を数えるのみである。我々は、入手の IAS 患者全例が HLA-DR4が陽性であり、現在12種類知られている DR4のサブタイプのうち、全例が DRB1*0406であることを見いだした (Lancet 339: 393, 1992)。IAS は、高力価の抗インスリン自己抗体産生機序と特定の HLA 型が強く関連していることが十分に考えられる。本症候群のような抗原提示細胞での HLA 型が一定である場合、抗原 (インスリン) 認識に関する T 細胞の機能あるいは T 細胞レセプターのレパートリーの検討に、in vitro 解析モデルとして今までにない理想的なモデルを提供すると思われる。1992年に IAS 患者27例全員が HLA-DR4陽性であること、また HLA-DR4のサブクラス12種類のうち27例全員が、DRB1*0406陽性であることを発見した。32例に増えても同様に HLA-DR4/DQ3の genotype は全員 DRB1*0406/DQA1*0301/DQB1*0302陽性であった。IAS 患者の40%近くは同症候群発症以前にバセドウ病を発症しており、バセドウ病を合併した場合 HLA-B62/Cw4/DR4 (DRB1*0406) を100%持つことも明らかにし、自己抗原であるヒトインスリンが DRB1*0406分子上で抗原提示されると DRB1*0406拘束性に T 細胞増加をおこすことも発見した。

5. Long-Lasting Potentiation in the Secondary Somatosensory Cortex Affects Motor Con-

trol

(Dept. Physiology)

Yoriko KAWAKAMI

We investigated descending projections from the secondary somatosensory cortex (SII) to the feline spinal cord and the effects of long lasting potentiation (LLP) in SII on the activities of motor neurons.

1. Low intensity subthreshold stimulation of SII preceding radial nerve (RN) stimulation changed H-wave amplitudes recorded on electromyography.

2. Pyramidal volleys produced by SII stimulation were recorded in the white matter of the C7-C8 spinal cord.

3. The c-fos positive cells, induced by SII stimulation, were distributed in the lateral part of the contralateral ventral horn.

These results suggest that motoneurons in the spinal cord are received projections from SII.

4. The effects of LLP in SII, induced by high frequency stimulation of the ventral posterolateral thalamic neuron (VPL), on the activities of spinal motor neurons were examined. LLP altered the previously observed effects of stimulation on H-wave amplitudes. The initial excitation of the H-reflex induced by SII stimulation was enhanced (from 139 to 175%), while the late inhibition was blocked (from 82 to 111%).

The cortical plasticity in SII may amplify somatic inputs from SI as a means of fine tuning motor control by the sensory system.

6. 急性白血病細胞における薬剤耐性遺伝子発現の

臨床的意義の検討と薬剤耐性克服の試み

(血液内科学)

泉二登志子

〔目的〕急性白血病細胞における薬剤耐性遺伝子の発現および産生蛋白の有無とその臨床的意義について検討し、薬剤耐性の克服手段として、P糖蛋白機能阻害剤 (MS209) の薬剤感受性回復効果についても検討した。

〔方法〕急性白血病症例138例から採取した白血病細胞について、多剤耐性 (multidrug resistance) 遺伝子、*mdr 1*, *mdr 3* および薬剤耐性関連蛋白 (multidrug resistance-associated protein, MRP) の発現を転写ポリメラーゼ連鎖反応法 (RT-PCR) および細胞化学染色 ABC-GO 法により測定した。p-glycoprotein (p-gp) は flow cytometry により検討した。細胞内薬剤濃度は Daunorubicin (DNR) と Rhodamine (Rh 123) を用いて、flow cytometry で検討した。p-gp 機能阻害剤 MS209 の効果は細胞内薬剤濃度測定と白血病芽球コロニー法を用いて検討した。

〔結果および考案〕*mdr 1*, *mdr 3*, MRP の発現率は検出方法によりかなりの差異を認め、mRNA level での陽性率と蛋白 level での陽性率は必ずしも一致しなかった。MRP は *mdr 1*, *mdr 3* とは従属関係が認められなかった。flow cytometry による p-gp の陽性率は治療効果と強く関連していた。細胞内 DNR 濃度および Rh123濃度は p-gp の陽性率が高くなるに従って低くなり、両者間には相関関係が認められた。MS209 の添加は薬剤耐性白血病細胞の DNR 濃度を高め薬剤耐性白血病芽球コロニー前駆細胞の DNR の対する感受性を非耐性白血病細胞とほぼ同程度にまで高め、臨床における効果が期待できると考えられる。