

り, K-ras 点突然変異は 8 例中 5 例 (62.5%) に陽性であった。positive control との比較でみたテロメラーゼ活性は, 膀胱の進行度, 組織分化度との間に明らかな関係は認められなかった。テロメア長は癌部・非癌部・正常膀胱の間に有意な差は認められなかった。

〔結語〕テロメラーゼ活性の膀胱組織における陽性率は 100% で K-ras の陽性率に比し高率であった。テロメラーゼ活性の測定は膀胱の診断に有用であり, 膀胱の活性が得られれば, 術前診断への応用が期待される。

7. 培養褐色脂肪細胞における腫瘍壊死因子 (TNF- α) の NO 合成酵素誘導について

(薬理学) 内田庸子・吉岡俊正・村木 篁

〔目的〕脂肪細胞にも発現するアディポサイトカインの 1 つとして知られる TNF- α は, 種々の脂肪細胞特異的遺伝子発現を減弱する分化抑制因子として知られている。我々は既にマウス培養褐色脂肪細胞において, TNF- α がリポ蛋白リパーゼ (LPL) 遺伝子発現を抑制し, LPL 活性を downregulate すること, この作用に NO が関与することを報告した (EJP 335: 235-243, 1997)。そこで今回は, TNF- α による NO 合成酵素 (iNOS) 誘導とその機序について検討した。

〔方法〕ICR 系雄性マウス褐色脂肪から採取した脂肪前駆細胞を 9~10 日間培養し, 脂肪細胞に分化させて使用した。iNOS 発現は, total RNA 抽出後 RT-PCR により, LPL 活性は³H-トリオレインを用いた加水分解後の FFK 放射活性より測定した。また Schreiber et al の方法により核抽出液を調製し EMSA (electrophoretic mobility shift assay) を行った。

〔結果〕TNF- α は, 濃度 (1~50ng/ml) および時間 (3~48h) 依存性に iNOS mRNA を増大した。転写因子 NF- κ B 活性化阻害作用のある, pyrrolidine dithiocarbamate (抗酸化剤), carbobenoxyl-L-isoleucyl- γ -t-butyl-L-glutamyl-L-analyl-L-leucinal (プロテアソーム阻害剤), N-acetyl-leu-leu-norleucinal (カルパイン阻害剤) により, TNF- α による iNOS 発現および LPL 低下作用も抑制された。また EMSA により TNF- α が NF- κ B の核内移行を増加させることが示された。

〔結語〕マウス培養褐色脂肪細胞において, TNF- α は NF- κ B 活性化系を介して iNOS を誘導し, LPL 活性等脂肪細胞機能に影響することが示唆された。

8. The cloning of bovine α 1-3 galactosyl transferase

(第三外科学) 澤田登起彦・石田茂樹・唐仁原全・中島一朗・瀧之上昌平・阿岸鉄三

動物の臓器をヒトに移植すると超急性拒絶反応によって, 移植臓器は瞬時に機能が廃絶する。超急性拒絶反応は異種臓器血管内皮に存在する α Gal と呼ばれる糖鎖抗原とヒト血清中の自然抗体が結合することで起こる反応である。 α Gal は α 1-3 galactosyl transferase (α 1-3GT) の触媒により合成されるため, 理論的には α 1-3GT をノックアウトすれば, 超急性拒絶反応は回避できうと考える。実際, マウスにおいては ES cell を用いた gene targeting により, α 1-3GT ノックアウトマウスが作製されている。しかし大動物では ES cell が樹立されておらず, 従来の方法での gene targeting は難しい。

昨年, 核移植技術によるクローンヒツジの誕生が注目されたが, 我々はこの核移植でのドナー細胞培養時に targeting vector を導入し, gene targeting を起こすことができると考えている。

我々は, 将来異種移植のドナーとしてウシを想定し, bovine α 1-3GT genomic DNA のクローニングを行った。本学会においては, これまでの実験経過と, 今後の α 1-3GT ノックアウトウシ作製までの実験予定について報告する。

(共同研究者: 東京女子医大解剖学・発生生物学 横山尚彦, 全農飼料畜産中央研究所 青柳敬人, 宇留野勝好)

9. 生体肝腎移植術

(¹第三外科学, ²腎臓小児科, ³消化器外科学, ⁴消化器内科学, ⁵形成外科学)

中島一朗¹・瀧之上昌平¹・三宮彰仁¹・澤田登起彦¹・星野智昭¹・中村道郎¹・唐仁原全¹・阿岸鉄三¹・白髪宏司²・伊藤克己²・高崎 健³・林 直諒⁴・野崎幹弘⁵・

〔目的および対象〕われわれの施設では本邦初の同一生体ドナーからの肝腎移植術を経験したので報告する。対象は生体肝腎移植術を施行した 3 症例である。症例 1 は 1 歳 3 カ月の女児で原発性過剰尿酸血症の診断のもとに父親をドナーとしてまず生体肝移植 (肝外側区域) を施行し, その後第 51 病日に同一ドナーからの生体腎移植 (右腎) を行った。症例 2 は 2 歳 0 カ月の男児で先天性肝線維症に末期腎不全を合併しており母親をドナーとして生体肝移植 (肝外側区域) を施行後, 第 107 病日に同一ドナーからの生体腎移植 (左腎) を

行った。症例3は3歳8カ月の男児で原発性硬化性胆管炎に末期腎不全を合併しており、母親をドナーとして生体肝移植（肝外側区域）を施行後、第65病日に同一ドナーからの生体腎移植（左腎）を行った。

〔結果および考察〕生体肝腎移植術を施行した3症例はいずれも軽快退院し外来にてフォローアップ中である。腎不全を合併した症例に対する生体肝腎移植術の問題点の一つにドナーの安全性を不安視する指摘もあるが、肝腎移植を二期的に行うことによってその安全性を高めることができると考えられた。しかし二期的に行うことによって循環動態の不安定な肝移植後に腎不全に対する血液浄化を継続しなければならない。このように生体肝腎移植術の実施にあたっては複雑な術式に対するより一層の向上のみならず、ドナーの安全性に対する十分な配慮やきめこまやかな周術期管理などを要求されるが、その成績は良好であり今後積極的な適応拡大が望まれる。

10. 慢性関節リウマチ患者における歩行時足底圧について

（膠原病リウマチ痛風センター整形外科）

水村珠青・桃原茂樹・井上和彦

〔目的〕慢性関節リウマチ（RA）患者では、多くの症例で足部障害が認められるが足底圧についての報告は少ない。我々はF-scanを用いて、RA患者の歩行時足底圧を経時的に測定し、歩行解析を行った。

〔方法〕対象はRA患者61人中122足で、これらに対しF-scan（Tekscan Co., Ltd., Boston, MA）を用いて歩行時足底圧を測定した。歩行周期での圧負荷を積分し、前足部・中足部・後足部に分け、各々の部位での圧負荷の割合を解析した。またAmerican Orthopedic Foot and Ankle Society（AOFAS）で提唱されている4つのfoot scoreを用いて足部の臨床評価を行った。膝関節についても同様に評価を行った。

〔結果〕圧負荷が後足部に最も大きかった症例は47例、中足部で25例、前足部で50例であった。AOFASの点数が300点以上の症例における各々の部位での圧負荷の割合は、後足部 $33.8 \pm 11.95\%$ 、中足部 $29.66 \pm 12.79\%$ 、前足部 $37.18 \pm 15.17\%$ であった。一方、300点以下では、後足部 $42.04 \pm 19.88\%$ 、中足部 $30.54 \pm 14.80\%$ 、前足部 $28.38 \pm 15.50\%$ であった。また膝関節に障害が強い症例では、前足部の圧負荷がより大きい傾向があった。

〔結論〕F-scanを用いてFA患者の歩行時足底圧を検討した。RA患者では足部障害の強い症例では後足

部歩行を、膝関節に障害の強い症例では前足部歩行していた。

11. 制限酵素のヘミメチル化DNAに対する切断作用

（法医学）北村明子・澤口聡子・澤口彰子

cDNAライブラリー構築の際、deoxycytidine triphosphateから5-methyl cytidineに置換し、ヘミメチル化DNAとする手法が報告されている。これは、制限酵素の多くがメチル化されたDNAを切断することができないという特性を利用し、伸展されたcDNAの分解を避ける手法である。しかし、基質であるヘミメチル化DNAに対する過剰量の制限酵素の切断作用は明らかではない。

今回我々は、クローニングベクターであるpBlue-scriptの制限酵素サイトを含んだヘミメチル化DNA断片を作製し、9種の制限酵素についてヘミメチル化DNAに対する切断作用を検索した。

AccI, BamHI, BstXI, NotI, PstI, SstIの7種の制限酵素では、ヘミメチル化DNAを切断作用は示さなかった。しかし、SacI, XhoIの2種では、至適制限酵素量とその10倍ではヘミメチル化DNAを切断することはできなかったが、100倍量では切断作用を示した。

法医学領域においても、新たな多型マーカーの開発などにcDNAライブラリー構築の手法は今後汎用されると考えられる。

本実験により完全なfull-length cDNAライブラリーの構築の可能性が示唆された。

12. イソアワモチ背眼網膜の絨毛型光受容細胞外節内微小管の走行—三次元画像再構成システムOZ-95による連続薄切切片の立体再構築—

（¹総合研究所、²同電顕室、³看護学部）

片桐展子¹・重松康秀²・片桐康雄³

背眼は背光型網膜で一層の絨毛型光受容細胞から成り、光受容部位（外節）は同心円状の層板構造を示す。外節の基部に約30本の結合絨毛（CC）が存在し、内部に9対の周辺微小管（MT）が認められる。外節を構成するCCの変形と内部のMTの走行について、連続薄切切片（0.1 μ m厚）60枚を三次元画像解析装置Reise OZ-953D Reconstruct Systemを用いて立体再構築した。1%オスミニウム酸で固定した背眼をエポン包埋し、絨毛型光受容細胞を横断する連続切片を作製、同一細胞の外節を構成する29本のCCの中から4本を選び、15,000倍の電顕写真上でその輪郭をトレースし原