

〔第15回山川寿子研究奨励賞受賞者研究発表〕

インスリン様成長因子受容体およびインスリン受容体の活性化測定法の確立

(第二内科学) 大久保由美子

インスリン様成長因子 (IGF)-I は細胞の分化, 増殖, 細胞死を調節している. インスリンおよび IGF-I はそれぞれ特異的な受容体 (インスリン受容体 (IR) と IGF 受容体 (IGF1R)) を有し, それぞれのリガンド結合によって受容体が活性化され, 細胞機能調節を行っている. 各種病態におけるリガンドと受容体活性化能を検討できれば, すなわち代謝異常または細胞増殖異常の臨床検体から抽出したリガンドの添加による受容体活性化能を検討することは, 病態解明さらには治療法の確立に有用と考えられる.

今回ヒト IR または IGF1R の活性化を定量解析する目的で, これらの受容体を過剰に発現させたマウス線維芽細胞に, 初期応答遺伝子の c-fos 転写因子発現を定量分析するように設定したレポーター遺伝子を形質導入させ, これらの受容体の活性化能を定量的に観察できる実験系の確立を試みた.

c-fos のプロモーター部位を組み込んだプラスミドをヒト IGF1R 過剰発現 NIH3T3 細胞に形質導入し, クローニングを行ってルシフェラーゼ活性を持つ細胞株を選出した. この系に IGF-I を添加すると, 濃度依存性にルシフェラーゼ活性が上昇した. 今後は血清などから抽出した IGF-I や IGF-II を添加してこの系の有用性を評価し, また IR についても同様の系を確立する予定である.

〔第11回佐竹高子研究奨励賞受賞者研究発表〕

臓器特異的転移において癌原発巣が転移前に転移先に影響を及ぼす分子の探求

(薬理学) 中村(平塚)佐千枝

癌の転移は, 癌を治癒することにおいて非常に困難な問題である. 現在, 原発巣あるいは転移巣において, 癌の増大を抑制あるいは縮小するために, 癌の血管新生をターゲットとした薬剤開発が盛んに行われている. 多くの癌において, 転移は血行動態に依存し, 臓器特異的であることは, 古くから知られている. この臓器特異的な転移は, いくつかの遺伝子が候補として同定され, 癌細胞に発現し, 転移先の臓器にも発現するものとして, ケモカインなどが同定されている. 現在までの研究経過において, 癌が原発巣であるいは転移して増大するには, 血管新生が必須であり, 癌より産生される血管内皮増殖因子 (VEGF) とそのレセプター Flt ファミリーが関与することを今まで明らかにしてきた. 最近我々は, 癌が原発巣から転移する前に VEGF の受容体の1つである VEGFR-1 を介して, 全身の臓器の中で肺特異的に発現上昇を認める matrix metalloproteinase 9 (MMP 9) を同定

した. さらに, in vivo においてこの上昇が肺への癌転移を促進し, 逆に VEGFR-1 tyrosine kinase あるいは MMP 9 の遺伝子欠損マウスを用いて, この MMP 9 の上昇を阻害すると, 転移して初期の癌細胞の侵入および, 癌細胞の増殖が阻害され, 結果として転移率が野生型のマウスと比較して約3分の1に減少することを見出した. 今回本研究で着目しているのは, 癌原発巣より分泌される VEGF を含めた因子が転移先に影響を及ぼし, 転移の臓器指向性を決定づける宿主側因子をスクリーニング的に検索し, 転移前の段階で癌転移を制御しうる新規の標的分子を同定し, 転移前にその分子を制御することにより, より早い段階での癌の転移の防御を行いたいと考えている.

経時的にリモデリングして血管壁が再構築する人工血管の開発と組織再生過程の観察

(心臓血管外科学) 富澤康子

人工血管は植え込み後, 外側に宿主の結合組織により囲まれ, 内側に血液が流れる. 内腔面は内皮細胞で覆われることが望ましいが, 植え込み後遠隔期になってもヒトにおいては治癒不全のままであり, 新生内膜で完全に覆われることはない. 植え込み後に天然の血管壁の3層構造と同じように, 人工血管の内面に速やかに一層の内皮細胞を誘導し, その下に外側に内輪外縦の平滑筋細胞層, 最外層に線維芽細胞を含む結合組織を形成できるような血管壁の再構築が望まれている.

「細胞, サイトカイン, 細胞外マトリックス」の基本条件を整え, 生体適合性を良好にし, 治癒を促進させれば生体における治癒不全を解決することが可能である. 組織工学を用いた組織・器官では, 植え込み後に経時的におこるリモデリングにより組織・器官の再構築がおこるため, 組織再構築のための最適条件を見付けることが重要である. 体外から非侵襲的に創傷治癒過程における血管新生過程を観察できる rabbit ear chamber モデルを用い, 細胞親和性が良好といわれている足場 (scaffold) を chamber 内に留置し, 血管新生の過程を観察し, 新生速度を測定した. 本研究は植え込み後に治癒不全のために内皮細胞が被覆しない人工血管を天然の血管の構造に近い血管にするための至適条件を求めることを目的に開始した研究であるが, 組織工学を含めた多分野における進歩に大いに貢献するものと考えている.

非アルコール性脂肪肝炎の肝障害機転における apoptosis の関与と肝線維化進展機序の関連

(消化器内科学) 橋本悦子・谷谷麻紀子・白鳥敬子

〔目的〕様々な肝病態において, 主要な肝細胞障害機転は apoptosis であり, 線維化進行機転は星細胞の活性化および細胞外 matrix (ECM) 分解酵素群 (MMPs) とその阻害物質 TIMPs のバランス破綻である. 近年肝での

apoptosis と線維化の深い関連が示唆されているが、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) における両者の関連は明らかでないため、NASH 症例肝組織における apoptosis と線維化マーカー発現の関連について検討した。

〔方法〕対象は当院で肝組織標本が得られ臨床経過と合わせ NASH と診断した 70 例である。ホルマリン固定パラフィン包埋切片で、apoptosis の評価で TUNEL 法と activated caspase 3 免疫染色、線維化関連で  $\alpha$ SMA, procollagen III, MMPs, TIMPs 免疫染色を施行した。一部の症例では snap frozen 肝組織から Trizol reagent で RNA を抽出後 reverse transcription を行い Taqman PCR 法で MMPs, TIMPs, caspases の mRNA を定量した。NASH の組織診断は Brunt の分類を参考に、線維化、炎症、脂肪化の各所見で検討した。

〔成績〕TUNEL 法と activated caspase 3 は陽性肝細胞が肝実質内に散在し、線維化マーカーは類洞内  $\alpha$ SMA 陽性星細胞および線維性隔壁内紡錘形細胞を中心に陽性であった。apoptosis 関連マーカーは NASH 高度炎症例で、線維化関連マーカーは線維化進行例で免疫染色性と mRNA 発現が高い傾向を示し、脂肪沈着とは相関を認めなかった。

〔結論〕NASH 肝組織において、apoptosis 関連および線維化関連マーカーの発現は NASH 病態の重症度と相関していた。

#### 核を持たないミトコンドリア細胞の細胞生物学的研究

(小児科学) 中野和俊・中山智博・野田尚子・  
村上てるみ・立川恵美子・  
斎藤加代子・大澤真木子

従来ミトコンドリアは細胞外で培養は不可能と考えられてきた。我々はミトコンドリアの性質を保ちながら核のない安定した cell line の分離“ミトコンドリア細胞 (MitoCell)”に成功した。今回我々は MitoCell の生物学的特性を見つけるために、増殖、酵素活性や構成蛋白に関する研究を行った。

〔方法〕MitoCell の検討は flow cytometer で sorting し細胞増殖を検討した。複合体 II+III, 複合体 IV の呼吸鎖酵素活性の測定および Gomori trichrome 染色, SDH 染色, CCO 染色を行った。また、細胞骨格および呼吸鎖酵素の抗体を用い、細胞免疫染色を行った。

〔結果〕MitoCell の呼吸鎖酵素は複合体 II+III, IV の活性が認められた。MitoCell は Gomori trichrome 染色, SDH 染色, CCO 染色すべて陽性に染まった。細胞の免疫染色では、複合体 IV のサブユニット、核遺伝子由来の Surf-1 で染色性が認められた。

〔考察〕MitoCell は核がなくても増殖可能であることが示された。また、MitoCell は mtDNA にコードされる蛋白のみならず核 DNA に由来する蛋白を持っているといえる。今回の結果後合わせて考察すると、MitoCell は

核はないが核 DNA を併せ持つことが類推される。MitoCell の遺伝子解析は現在進行中である。

#### 〔一般演題〕

#### 薬剤管理指導業務 (1) 術後強度となった片頭痛に対する服薬指導

(薬剤部) 卯月基子・廣原正宜・鳴戸迪子・  
武立啓子・藤井恵美子

薬剤管理指導の目的は、医薬品の適正使用の推進、チーム医療の充実および患者サービスの向上である。入院患者に対しての薬剤管理指導業務が、1988 年に診療報酬として認められ (1 件 350 点)、薬剤師が薬物療法の質的向上に寄与してきた。東京女子医大病院では現在、専任の薬剤師 5 名が心臓病センター、消化器病センターで指導を行っている。今回は、心臓血管外科病棟で術後片頭痛が強くなり、漢方薬処方提案により著効を呈した 1 症例について報告する。

〔症例〕22 歳、女性、身長 156cm、体重 38.9kg。既往歴：片頭痛、脾腫、卵巣嚢腫、小脳梗塞 (経過観察中)。診断名：感染性心内膜炎および僧帽弁閉鎖不全症。患者は当院に緊急入院し、僧帽弁置換術施行となる。手術直後から片頭痛が強く出現したため神経内科を受診し、トリプタン系薬剤、Ca 拮抗剤が処方されるが緩解せず、治療薬は増量され経過観察となった。そこで、脳血管障害に伴う頭痛に対して効果が認められている漢方薬“呉茱萸湯” (比較的強い鎮痛作用を有する) の処方を医師に提案し、Ca 拮抗剤との併用を行った。“呉茱萸湯”には呉茱萸、人參、生姜、大棗が配合されており、手足の冷えやすい体力の低下した人に用いるもので、空腹時に白湯で服用し、普段から首、肩、足元を温かくしておくように指導した。服薬後、1 週間で頭痛が消失し、その後退院までの 1 ヶ月間は頭痛の発症はなかった。

〔考察〕薬剤師が病棟へ出向くことは、処方薬の薬物相互作用や副作用をチェックするとともに、患者個人の病歴・病態を考慮した処方支援を行うことができ、薬物療法の向上につながるものと考えられる。

#### 薬剤管理指導業務 (2) 消化器外科病棟での癌性疼痛に対する「痛みの管理表」の作成

(薬剤部, \*消化器外科学) 廣原正宜・  
鳴戸迪子・卯月基子・武立啓子・  
藤井恵美子・高崎 健\*

〔目的〕薬剤管理指導の目的には医薬品の適正使用の推進、チーム医療の充実がある。東京女子医大病院では、オピオイド製剤使用患者に対しての統一した疼痛管理評価法がない。オピオイド製剤により癌性疼痛をコントロールするには副作用を最小限に抑え、鎮痛効果を最大限に得るための薬剤の適正使用が不可欠である。今回、消化器外科病棟において患者自身が直接記入する「痛み