

with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia: EAOH) という疾患名が提唱されている (Date H et al. Nature Genetics 2001)。我々は、EAOH 自験例 4 家系 6 症例の臨床像について、遺伝子変異が見い出された後では初めて詳細に解析し、遺伝子解析にて 1 家系 2 症例に新規の missense 変異を同定し、他の家系にも既報と同じ insertion, missense 変異が存在することを報告した (Shimazaki H et al. Neurology 2002)。EAOH の病態解明のため、原因蛋白 aprataxin と相互作用する蛋白の単離と、遺伝子変異による aprataxin 蛋白の細胞内局在の変化を解明することを目的とした。

#### 方法・結果

胎児脳 cDNA ライブラリーより、Bacterial Two-Hybrid system を用いて short form aprataxin と相互作用する蛋白の単離を試みた。その結果、2つの可能性のある蛋白が単離された。1つは、Collapsin response mediated protein-2 (CRMP-2) で、これは発生時期の哺乳類の神経細胞に一過性に発現する細胞内タンパク質であり、神経細胞の軸索形成に重要な役割を担う可能性がある。もう一つは、FLJ31106 というクローンで、CD34陽性血液幹・前駆細胞に発現している HSPC166 にホモロジーのある蛋白である。これはそれ以上の機能等についてはまだ解明されていない。今後免疫沈降法を用いて相互作用を確認する予定である。

変異蛋白を培養細胞に発現させ、その発現パターンの変化を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。GFP, Myc と short-form aprataxin の融合蛋白を COS7細胞に発現させたところ、野生型は細胞質に多く局在し、167番塩基の T 挿入変異と、80番目の塩基の A から G への、また95番目の塩基の C から T へのミスセンス変異のある蛋白は、核に多く局在した。また変異蛋白を発現させた細胞質には、信号強度の高い点状の発現がよく見られた。

#### 考察・結論

aprataxin は、神経細胞の軸索形成に関係した CRMP-2 との相互作用が示唆されており、EAOH における末梢神経の軸索障害との関連

が推定された。aprataxin を培養細胞に発現させたところ、野生型と変異型では局在が異なっており、細胞内局在の変化が病態に関与していることが示唆された。T 挿入変異では、フレームシフトを起こし正常より短い蛋白が作られ、また、2種類のミスセンス変異は、ヒスチジン triad スーパーファミリーの保存されたアミノ酸残基に位置しているため蛋白の機能異常を来たし細胞内局在が変化すると考えられた。今後は、DNA 修復に関連しているとされる long-form aprataxin で、変異により細胞内局在の変化がみられるか検討する予定である。

#### DNA チップを用いた骨髄間葉系幹細胞の分化制御機構の解明

自治医科大学内科学講座血液学部門  
宮里 彰

骨髄間葉系幹細胞は中胚葉系の細胞である脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨芽細胞、筋細胞などに分化誘導されることが知られているが、分化誘導や未分化維持に関する機序については不明な点が多い。マウス胎児由来の線維芽細胞株 C3 H10T1/2 (10T1/2) 細胞と 10T1/2細胞をアザシチジンによって処理することにより得られた脂肪前駆細胞株 A54細胞と筋芽細胞株 M1601細胞は形態的には 10T1/2細胞と区別することが困難であるが、適当な培養条件によりそれぞれ脂肪細胞、筋繊維へと分化誘導される。これに対して 10T1/2は未分化の状態を維持する (Nishikawa ら, Blood 81: 1184-1192, 1993)。これらの細胞株は造血支持能も有しており、骨髄間葉系幹細胞の分化機構やその生物学的役割を解析するための良いモデルと考えられる。我々は間葉系幹細胞の分化誘導、未分化維持に関わる分子を探索する目的で、これらの細胞より mRNA を抽出し、GeneChip システムを用いて遺伝子発現プロファイリングを行った。10T1/2細胞、A54細胞、M1601細胞は類似の形態を呈するが、クラスター解析を行ったところ、明らかに異なる遺伝子発現パターンを示した。10T1/2細胞では A54細胞や M1601細胞に比し、CD90,

Activin, Dlk, Nov, Rbp1, Fhl1, Wnt5a など、105個の遺伝子の発現上昇を認めた。また、これらの遺伝子のいくつかは、Real-Time PCR や flowcytometry においても同様の結果が確認された。A54細胞においては201個の遺伝子の発現上昇が認められた。これらの中には C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\delta$ , PARR- $\gamma$ , PAI-I, Frizzled-1 といった脂肪細胞分化に関わる遺伝子の他、CXCL1, CCL2, CCL7, など種々のケモカインの発現が亢進していた。更に注目すべきことに造血支持能に重要な因子である SCF や SDF-1 の発現も亢進しており、このことは A54細胞が他の2つの細胞株より高い造血支持能を有することに合致し、生理的な造血微小環境においても脂肪前駆細胞が重要な役割を果たしている可能性があると考えられた。更に A54細胞を脂肪分化誘導すると C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\delta$ , PARR- $\gamma$  などの遺伝子発現レベルはほとんど変化しないが、SCF や SDF-1 の発現レベルは時間経過に伴い低下した。最近、造血幹細胞の自己複製には骨芽細胞が重要な働きをしていることが報告されており、造血支持能を維持するためには完全な未分化な細胞や完全に分化した細胞より、ある程度分化した前駆細胞が重要な働きを果たしている可能性が考えられた。また、M1601細胞においては形態的には10T1/2細胞同様に線維芽細胞様であるのにも関わらず、MyoD, MLC1F, myosin heavy chain, myosin light chain, troponin C, troponin T など筋線維として機能するための多くの遺伝子の発現を認めた。これらのことより、骨髄より付着性を利用して分離されることの多い間葉系細胞は、例え形態的には類似であっても、遺伝子発現レベルにおいては種々の分化段階にあるヘテロな集団であり、間葉系の各細胞への分化という点だけではなく、骨髄における機能的役割も分担していることが予想される。今後は、この詳細な分子機構を解析していく予定である。

#### 胃癌患者における TS-1 隔日投与法の有用性と臨床薬理学的研究

消化器・一般外科 細谷 好則, 荒井 渉

#### はじめに

胃癌化学療法において、TS-1は単剤で44-49%という高い奏効率が得られ中心的役割を担う。しかしながら、推奨投与方法である4週間投与2週間休薬(以下連日投与)では、有害事象出現のため休薬あるいは中止せざるを得ない症例をしばしば経験する。そこで、フッカピリミジン系抗癌薬の隔日投与法は抗腫瘍効果を損なうことなく有害事象を軽減できるという理論に基づき、我々は TS-1 隔日投与法を試み、その有効性および安全性を検討した。

#### 対象と方法

非手術、再発および再発のリスクが高い相対的治癒切除例を対象とした。TS-1は1日2回朝夕食後に、推奨投与量の体表面積(body surface area; BSA)に応じた量【BSA < 1.25m<sup>2</sup>で80mg/day, 1.25m<sup>2</sup> ≤ BSA < 1.5m<sup>2</sup>で100mg/day, BSA ≥ 1.5m<sup>2</sup>で120mg/day】を、一日おきに投与した。臨床効果として有害事象、治療期間、奏効率、無症状増悪期間および生存期間中央値について検討した。臨床薬理学的検討として5-FU 血中濃度を測定した。なお、腫瘍効果評価は RECIST ガイドラインおよび胃癌取り扱い規約第13版、有害事象は NCI-CTC に基づき評価した。

#### 結果

2000年4月より2003年10月まで、92例が TS-1 隔日投与法で治療を受けた。92例中72例が TS-1 連日投与で有害事象出現のため隔日投与法に変更した。20例は、高齢や、併存症のため有害事象出現が懸念されたため当初より隔日投与法で開始した。

72例について、連日投与での有害事象は Grade 1 が36/72例(50%)、Grade 2 が33/72例(46%)、Grade 3 が3/72例(4%)であった。同一症例が隔日投与に変更することで、Grade 2 の皮膚炎および下痢を各1例、Grade 1 の白血球減少、嘔気、嘔吐、下痢および皮膚色素沈着を各1例ずつに認めたのみで、残りの症例では有害事象は認められなかった。

同一症例での TS-1 連日および隔日投与法での治療期間は、連日投与47日に対し隔日投与は272日間であり、3コース完遂率(TS-1総投与量8400mg)でも連日投与13%(9/72)、隔日投与で