

いたらなかった。人工心肺におけるエラスポールの急性全身性炎症反応に対する効果は、術後肺障害が高率に予測される侵襲の大きな症例（緊急手術・循環停止症例）を対象に再検討する必要がある。

The prevention of organ injuries by the inhibition of leukocyte activation.

Yukio Sato^{1,2}, Yukinobu Goto², Shoko Sato², Shunsuke Endo¹, and Yasunori Sohara¹

- 1 Division of Thoracic Surgery, Department of Surgery, Jichi Medical School, Minamikawachi, Tochigi 329-0498, Japan
- 2 University of Tsukuba, Institute of Clinical Medicine, Tsukuba, Ibaraki, 305-8575, Japan

This research was funded by the University of Tsukuba Research Project and Jichi Medical School Young Investigator Award

ABSTRACT

The use of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) for the recovery from neutropenia has been established; however, acute lung injury due to G-CSF induced polymorphonuclear leukocytes (PMN) activation is a serious complication. This study was designed to compare the activation of PMN with single bolus administration and continuous administration of G-CSF. Healthy volunteers (age, 33.8 ± 1.4 years, $n=6$) received a single bolus injection of 50 micrograms/m² of G-CSF (SI; $n=6$) or continuous subcutaneous injection of 50 micrograms/m² of G-CSF for 24 hrs (CI; $n=6$), and were followed for 48 hrs. Circulating leukocyte counts, markers of activation on PMN, and circulating levels of G-CSF, IL-6 and PMN elastase were measured. SI rapidly increased serum G-CSF levels that peaked at 4hrs, whereas CI gradu-

ally increased G-CSF levels, which remained at a steady level from 8 to 24hrs. SI caused a rapid decrease in PMN counts at 0.5hr followed by sustained increase to peak at 12hrs. CI gradually increased PMN counts, which peaked at 24hrs, but the peak values were not significantly different between the groups. SI induced activation of PMN, which was characterized by increased expression of CD11b, decreased expression of L-selectin, and increased F-actin content, lead to increases in serum IL-6 and PMN elastase level. Such changes were all attenuated with CI ($p < 0.05$). We conclude that continuous subcutaneous injection of G-CSF resulted in a similar marrow response as a single injection but yielded reduced PMN activation.

筋強直性ジストロフィーの分子病態と SIX5 標的遺伝子

細胞生物研究部 佐藤 滋

目的

筋強直性ジストロフィー1型 (DM1) は高頻度で見られる成人の神経筋疾患である。原因となる突然変異は19q13.3に位置するCTGリピートの伸長であり、リピート伸長は近接するSIX5遺伝子の発現量を低下させる。SIX5は骨格筋、水晶体、神経組織、性腺で発現するホメオドメイン型転写因子をコードしており、Six5遺伝子欠損マウスは白内障及び性腺機能低下症を発症するので、SIX5タンパク質の下流標的遺伝子の発現量の変動が一部のDM1症状の発症に関わっている可能性が高い。本研究では、SIX5標的遺伝子の体系的検索を行うことで、SIX5の発現量低下がどのような標的遺伝子の発現異常を引き起こし、DM1の発症に関わっているのか、その分子基盤の一端を明らかにすること目的とする。

方法

VP16タンパク質の強力な転写活性化ドメイ

ンを融合させた野生型 Six5 (VP16-Six5), 及び特異的 DNA 結合能を欠く変異型 Six5 (VP16-Six5W241R) をコードする cDNA をアデノウイルスベクター AxCAwt に組み込み, 野生型と変異型 Six5 を過剰発現する組換えアデノウイルスを構築した。2 種類の組換えウイルスをヒト水晶体上皮細胞 SRA01/04, 子宮顆粒膜細胞 KGN に感染させた。感染後, 短時間 (24 時間) で RNA を抽出, Cy3 と Cy5 で標識した cDNA プローブを合成し, Agilent 社製 cDNA マイクロアレイ (12,814 遺伝子を搭載) に対する競合ハイブリダイゼーションを行い, 野生型 Six5 の過剰発現により発現レベルが 2 倍以上増加 (野生型/変異型 > 2) した遺伝子を標的候補として同定した。

結果と考察

水晶体上皮細胞で同定した 227 遺伝子には白内障との因果関係がすでに示されている 4 遺伝子 (転写因子 PITX3, 成長因子 TGFB2, 酵素 KMO, コネクシン GJA1) が含まれていた。さらに水晶体透明度の維持に不可欠な複数の Na や K イオンチャンネル, グルコーストランスポーターの遺伝子が含まれていた。顆粒膜細胞で同定した 311 遺伝子には性腺機能低下症との因果関係が示されている遺伝子 (アロマトラーゼ CYP19A1, エストロゲン受容体 ESR1, エストロゲン受容体の転写コファクター NR1P1, 転写因子 GATA4, ニューロトロフィン BDNF) が含まれていた。さらに, 白内障に関わる KMO, Six ファミリータンパク質と協調してはたらく Dach をはじめ, 50 個を超える遺伝子が 2 種類の由来の異なる細胞で標的候補として同定された。このことは本研究で用いた標的遺伝子の同定方法の有効性を示すものと考えられた。10 個以上の遺伝子について RT-PCR による検証実験を行い, アレイ解析で検出した発現レベルの変動パターンを確認することができた。水晶体, 卵巣周辺での SIX5 の発現低下がこうした遺伝子の発現レベルを局所的に増減させ, 白内障や性腺の機能を低下させるという機序が示唆され, 非常に興味深い。今後は今回同定した標的候補遺伝子について, DM1 患者に類似の白内障や性腺機能低下症を発症する Six5 遺伝子欠損

マウス組織における発現パターンの検証を予定している。また, Six5 標的遺伝子プロモーターの構造, 配列上の特徴を見だし, その転写制御機構を調べることで, 将来治療法の開発に結びつく可能性があるのではないかと期待している。

子宮内膜症とアレルギー反応：発生・進展メカニズムに基づく疼痛治療ターゲットの研究

* 1 自治医科大学産科婦人科学教室

* 2 自治医科大学大宮医療センター婦人科

藤原 寛行*1, 今野 良*2, 鈴木 光明*1

ロイコトリエンの産生源のひとつである肥満細胞が子宮に存在することは古くから知られているが, 子宮内膜症との関係を示す報告は少なく, 数編が認められるのみである¹⁻³。今回我々は, 子宮内膜症の発生・進展に肥満細胞が関与しているか否かを形態学的に検討し, 肥満細胞が子宮内膜症の治療ターゲットとなり得るかを考察したので報告する。

内膜症組織 53 検体に対し, HE およびトルイジンブルー (TB) 染色を行い肥満細胞を同定した。上記染色に加え電子顕微鏡による検討も加え, 肥満細胞であることの再確認, および脱顆粒の証明を行った。コントロールとして正常子宮内膜組織 (非子宮内膜症患者), 子宮内膜症患者の正所性子宮内膜組織を用い, 同様の検討を行い, 内膜症病変部肥満細胞との数的および脱顆粒などの質的相違について検討した。さらに, 卵巣子宮内膜症性嚢胞 13 検体において肥満細胞の局在および脱顆粒の有無を検討した。いずれの検体もインフォームドコンセントを得て研究に供した。

肥満細胞は濃いブルーから紫色に染まり, 同定が可能であり, 脱顆粒像も確認できた。電子顕微鏡で検討すると形態的にもこれらが肥満細胞であることが確認でき, またその多くが脱顆粒しており, 活性状態にあることが解った。内膜症病変部の肥満細胞は数的にも多く, また脱顆粒している比率も高く, 活性状態にある肥満細胞が病変部に多数認められることが確認され