

- 1 initial pursuit (IP) 速度：
3例とも有意な変化は認められなかった。
 - 2 post-saccadic pursuit (PSP) 速度：
損傷側と下方において損傷直後著明な減少が見られた。
- B サッケード眼球運動への影響 (catch-up saccade (CS) 振幅)
損傷側方向：N,Eの2例で検討したが、1-3割CS振幅が減少した。
下方向：C, Nで持続的な約1割のCS振幅の減少が見られた。
- C 滑動性追跡眼球運動の適応への影響
PSP速度の増加率と時間経過は損傷前に比し3例とも有意差は見られなかった。

IV 考察

本研究結果はLPが同側方向への滑動性追跡眼球運動のPSP速度制御に関与することを強く示唆する。低下したPSP速度の回復に関しては、他の小脳部位による代償の可能性が指摘される。サッケード眼球運動に関しては、少なくとも小振幅の運動においては、LPがその振幅の制御に関与している可能性がある。LPの損傷は適応パラダイムに影響しなかった。適応パラダイムに関しては、前頭眼野や小脳半球第VII小葉、小脳傍虫部の不活化や損傷が適応パラダイムによる運動学習に影響することがすでに我々のグループにより確認されている。

腹膜播種を標的とした卵巣癌遺伝子治療に関する基礎的研究

地域医療学系 生殖・発達医学4学年
竹井 裕二

卵巣癌は近年増加傾向にあり、現在、婦人科癌の中で最も死亡数の多い疾患である。卵巣癌は少なくとも初期においては無症状のことが多く、そのため半数以上の患者が腹水貯留や腹膜播種をきたした進行癌で発見される。現在の治療法だけでは既に限界がきており、新たな治療戦略の開発が必要となっている。

悪性腫瘍の進展には血管新生が大きく関与している。卵巣癌においても原発巣および転移巣

の増殖に血管新生が重要な働きをしている。それゆえ、血管新生阻害は腹膜播種の抑制につながり、ひいては進行卵巣癌の予後を改善出来る可能性がある。本研究では、VEGF受容体のひとつであるVEGFR-1 (Flt-1)の可溶性であるsoluble Flt-1 (sFlt-1)が卵巣癌の腹膜播種抑制能を有するかどうか、さらに、その臨床応用を目指しsFlt-1発現AAVベクターを用いた卵巣癌遺伝子治療の可能性について検討した。

sFlt-1発現株 (SHIN-3/sFlt-1)とLUC発現株 (SHIN-3/LUC)を用いた。SHIN-3/sFlt-1とSHIN-3/LUCをヌードマウスの皮下もしくは腹腔内に接種した。次いで、遺伝子治療モデル実験を行うため、AAV1-sFlt-1, AAV1-LacZを作製した。ヌードマウスの後肢骨格筋にベクター粒子を注射した後、SHIN-3をヌードマウスの皮下もしくは腹腔内に接種した。

SHIN-3/sFlt-1の皮下腫瘍の増殖は、顕著に抑制された ($p < 0.01$)。細胞の腹腔内接種では、SHIN-3/sFlt-1接種群はSHIN-3/LUC接種群と比較し、腹水量 ($p < 0.01$)、腹膜播種重量 ($p < 0.001$)ともに有意に少なかった。また、SHIN-3/sFlt-1接種群ではSHIN-3/LUC接種群に比し、生存期間の有意な延長がみられた ($p < 0.05$)。遺伝子治療モデル実験では、SHIN-3皮下腫瘍の増大は、AAV1-sFlt-1筋注群で、AAV1-LacZ筋注群と比べ、有意に抑制された ($p < 0.05$)。腹膜播種の重量は、AAV1-sFlt-1筋注群において、AAV1-LacZ筋注群に比べ有意に少なかった ($p < 0.05$)。

sFlt-1には血管新生抑制を介して、卵巣癌の腫瘍増殖抑制と腹膜播種抑制効果のあることが確認された。また、sFlt-1発現AAVベクター (AAV1-sFlt-1)を筋注することによっても、腫瘍増殖抑制および腹膜播種抑制に成功した。以上より、sFlt-1による、腹膜播種を標的とした卵巣癌遺伝子治療の可能性が示唆された。

インターロイキン-10の体内発現による動脈硬化の抑制

地域医療学系 循環器・呼吸器疾患学
吉岡 徹

目的

動脈硬化は血管壁における慢性炎症と考えられている。また、動脈硬化症の進展に関与している脂質代謝異常が、サイトカインと関連していることが報告されている。

抗炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL) -10の動脈硬化における役割と治療への応用の可能性について検討した。なお、動脈硬化は慢性疾患であることから、IL-10の作用を検討するために、長期間の蛋白質発現が可能なアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた。

方法と結果

マウス IL-10を発現する AAV ベクターを構築した (AAV-IL-10)。C2C12細胞 (マウス骨格筋芽細胞) に AAV-IL-10を感染させ、IL-10の産生を Western blot 法及び ELISA 法にて検出した。IL-10遺伝子導入 C2C12細胞の培養液を J774細胞 (マウス単球) に添加したところ、LPS 刺激による TNF- α , IL-6, および MCP-1の産生が抑制されていた。このことから、IL-10遺伝子導入 C2C12細胞から産生される IL-10は、抗炎症作用を有することが *in vitro* で確認された。

次に、高コレステロール食を負荷した ApoE 欠損マウスの前脛骨筋に 1×10^{12} g.c. の AAV-IL-10を注入した。血清 IL-10は遺伝子導入後 2ヶ月間安定に発現された。上行大動脈における動脈硬化病変を oil red-O 染色で評価した結果、AAV-IL-10投与群で動脈硬化病変面積が 31%減少した。その機序として、動脈硬化病変局所および血清における MCP-1発現の抑制とともに、血清 IL-10濃度依存性の血清コレステロール値低下が考えられた。

最後に、IL-10が血清コレステロール値を下げる機序を検討した。HepG2細胞 (ヒト肝細胞) において、IL-10は濃度依存性にコレステロールの産生を抑制した。また、定量的 RT-PCR 法により HMG CoA 還元酵素の発現抑制が明らかとなった。

結論

AAV-IL-10の単回の筋肉内注入によって IL-10が長期間安定して発現し、これによる抗炎症作用および脂質代謝改善作用を介して動脈硬化

症の進展が抑制された。IL-10の多面的作用を応用した動脈硬化性疾患の新規治療法の開発が期待される。

脳神経分化に伴い発現調節を受ける神経性 RNA 結合タンパク質 (Drb1) の機能解析

地域医療学系 生殖発達医学
3 学年 野崎 靖之

目的, 方法 RNA 結合タンパク質は、標的 RNA へ結合し、RNA の翻訳調節、スプライシング、安定性制御、局所輸送等に関与することにより、生物個体の発生・分化過程において重要な働きをしている。最近、本学で単離した新規神経性 RRM 型 RNA 結合タンパク質 (Drb1: Developmentally-regulated RNA-binding protein 1) はその遺伝子の発現様式から神経分化の過程に密接に関与することが推測されている。そこで本研究では、新規神経性 RNA 結合タンパク質 (Drb1) の機能を解析するために抗体を作製し、この抗体を用いたタンパクブロット法、免疫細胞染色、及び免疫組織染色法により細胞内局在と組織分布を検討した。

結果 精製した抗ヒト Drb1抗体を用いたラット、マウス脳組織のタンパクブロット法では 53 kDa のタンパク質を検出した。この分子量は Drb1cDNA からの予測分子量と一致した。PC12細胞の免疫細胞染色法では Drb1は主に核に局在し、細胞質にも顆粒状に存在した。マウス E12, E16, P0, P1, P12の脳組織を用いたタンパクブロット法では Drb1タンパク質は E12マウス胎仔脳に強く発現し、発達段階に伴いその発現は減少した。E12マウス胎仔脳を用いた免疫組織染色では、Drb1タンパク質は終脳、中脳、視床に発現していた。P0マウス脳では、神経幹細胞のマーカーである Nestin や成熟神経細胞のマーカーである NeuN のどちらとも異なる染色パターンを示した。

1. 考察 培養細胞では Drb1タンパク質は核優位に局在したことから核内ではスプライシングに関与している可能性がある。また、タンパクブロット法では Drb1タンパク質はマウス脳において E12で最も強く発現し、発達とともに発現量は減少した。このことは