

画像診断による治療評価（Fusion 造影超音波、三次元造影超音波、画像ソフトなどによる治療前後での DICOM data を用いた三次元的な治療評価）が重要であると考えられる。

P2-18.

セラミド蓄積を伴うネクロシスは抗酸化剤またはカテプシン B 活性阻害剤によりレスキューされない

（医学部医学科 3 年）

○伊東 里奈、○金子奈穂美

（医学部医学科 5 年）

宮内 博基

（生化学）

森谷 昇太、風間 宏美、山根 基輝

これまで、細胞内セラミド（Cer）含有量上昇とアポトーシスとの関係は多く報告されている。しかし、その上昇とネクロシスとの関係の報告は少ない。最近、高いサバイビン発現量を有することでカスパーゼ依存性アポトーシス過程が阻害されている A549 細胞を用いて、セラミド代謝阻害剤・2 剤併用により誘導されるパルミトイル（C16: 0）-Cer 含有量上昇とネクロシス過程の解析の報告が行われた。そこでは、2 剤併用系にて、Cer 合成酵素 5 の発現を伴う C16: 0-Cer 蓄積、cathepsin B の遊離、ライソソームのアルカリ性化、その後のネクロシスと急速なスフィンガニン（d18: 0）の合成・蓄積が起こった。この度の自主研究では、これらの現象が酸化的ストレスまたは Cathepsin B 活性に依存するかどうかを検討した。

【方法】 2 剤併用系として DL-PDMP 200 μ M と D-NMAPPD 65 μ M の同時添加を、2 剤併用系への効果を調べる為に、N-acetyl-L-cysteine または Cathepsin B 活性阻害剤（CA074Me）の添加を行った。ネクロシスとアポトーシスの判定は 7-AAD と Annexin V による染色、ライソソームの安定性は acridine orange による染色と細胞質への cathepsin B の遊離から調べた。誘導・蓄積される Cers と d18: 0 含量は RPLC-APCI-MS にて調べた。

【結果】 2 剤併用系にて C16: 0-Cer 蓄積が顕著に起こり、添加 2-3 時間後には cathepsin B の遊離とライソソームのアルカリ性化が観察された。その後、

顕著なネクロシスと急速な d18: 0 の合成・蓄積が見られた。その系への N-acetyl-L-cysteine または CA074Me は何れも有意な効果を示さなかった。

【考察】 2 剤併用系におけるライソソーム膜透過性（LMP）と C16: 0-Cer と d18: 0 の蓄積およびネクロシス誘導は ROS や Cathepsin B 活性に依存しない現象である。ミトコンドリア外膜におけるセラミドチャンネル形成と同様に、ライソソーム膜でも同様のチャンネル形成を想定することができるかもしれない。

P2-19.

Cord Blood-Derived Endothelial Colony-Forming Cell Function is Disrupted in Congenital Diaphragmatic Hernia

（社会人大学院博士課程 4 年分子病理学、国立成育医療研究センター周産期・母性診療センター新生児科、生殖・細胞医療研究部）

○藤永 英志

（国立成育医療研究センター生殖・細胞医療研究部）

藤永 裕子、梅澤 明弘

（国立成育医療研究センター周産期・母性診療センター 新生児科）

伊藤 裕司

（分子病理学）

黒田 雅彦

Vascular growth is necessary for normal lung development. Although endothelial progenitor cells (EPCs) play an important role in vascularization, little is known about EPC function in congenital diaphragmatic hernia (CDH), a severe neonatal condition that is associated with pulmonary hypoplasia. We hypothesized that the function of endothelial colony-forming cells (ECFCs), a type of EPC, is impaired in CDH. Cord blood (CB) was collected from full term CDH patients and healthy controls. We assessed CB progenitor cell populations as well as plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) and stromal cell-derived factor 1 α (SDF1 α) levels. CB ECFC growth kinetics, migration, nitric oxide (NO) production, tube formation, and mRNA expression of VEGF-A, fms-related tyrosine kinase 1 (FLT1), kinase insert domain