
 一般演題：展示 P-1～P-16

P-1.
乾癬治療に用いるステロイドと活性型ビタミン D3 のリンパ球抑制効果の比較—溶連菌由来スーパー抗原の影響—

(大学院単位取得・皮膚科学)

○荒井 佳恵

(皮膚科学)

大久保ゆかり、坪井 良治

(東京薬科大学臨床薬理)

平野 俊彦

【目的】 乾癬治療におけるステロイド (GC) 外用薬や活性型ビタミン D3 (VD3) の効果には、個人差がみられる。また細菌感染が乾癬の発症に関連し、増悪因子となりうることはよく知られている。そこで本研究では、溶連菌感染が乾癬発症や治療効果に及ぼす影響を検討するため、コンカナバリン A (con A) や溶連菌由来スーパー抗原 SPEA で刺激した末梢血単核細胞 (PBMC) の増殖に及ぼす GC や VD3 の効果を比較検討した。

【対象と方法】 健常者 28 名の静脈血より PBMC を分離し培地に懸濁後、con A または SPEA を加え、更にオキサロール (Oxa)、タカルシトール (Tac)、または酪酸プロピオン酸ベタメサゾン (BBP) を添加して 80 時間培養した。トリチウムチミジン存在下に更に 16 時間培養し、細胞に取り込まれた放射能を測定して、PBMC 増殖を 50% 抑制する薬物濃度 (IC50 ng/ml) を求めた。

【結果】 con A 刺激した PBMC の増殖に対する、Oxa、Tac、および BBP の IC50 の中間値 (範囲) は、各々 17 (0.007-5,000)、901 (0.1-3,997)、および 0.07 (0.001-223) ng/ml であった。一方 SPEA 刺激した PBMC に対する各薬物の IC50 の中間値 (範囲) は各々 2 (0.05-3,349)、348 (0.1-1,371)、および 292 (0.001-1,172) ng/ml であった。con A 刺激 PBMC と SPEA 刺激 PBMC 間で Oxa や Tac の IC50 値に有意差はなかったが、BBP の IC50 値は SPEA 刺激 PBMC の方が有意に高く ($p=0.0245$)、感受性が低下していた。

【結論】 SPEA 刺激 PBMC に対する BBP の抑制効果は減弱するが、逆に VD3 の効果は増強した。溶連菌感

染を合併した場合に、GC の効果が減弱する可能性が示唆された。

P-2.
網膜芽細胞腫細胞株 (Y-79) に対する水溶性フェノキサジン (Phx-1) の抗腫瘍効果

(大学院単位取得・眼科学)

○木村 圭介

(眼科学)

白井 嘉彦、服部 貴明、山川 直之

後藤 浩、白井 正彦

(病理学)

岡田 真也

(早稲田大学大学院)

白土 健

(生化学)

友田 燁夫

【目的】 2-Amino-4, 4 α -dihydro-4 α , 7-dimethyl-3H-phenoxazine-3-one (Phx-1) は扁平上皮癌細胞、腺癌細胞、白血病細胞などに抗腫瘍効果を示すことが確認されている。今回、我々は *in vitro* と *in vivo* において網膜芽細胞腫細胞株 (Y-79) に対する Phx-1 の抗腫瘍効果の検討を行った。

【方法】 Cell Titer-Blue™ Cell Viability Assay (Promega®) を使用して *in vitro* における Phx-1 の Y-79 増殖抑制効果と annexin-V を用いて apoptosis の関与について検討した。また、Y-79 を BALB/c ノードマウスの背部皮下に移植し、Phx-1 を投与した後の腫瘍重量、マウス体重を測定し、さらに病理組織学的な検討と Ki67、p53、bcl-2、caspase などの抗体を用いた免疫組織化学的検討を行い、抗腫瘍効果およびその作用機序について考按した。

【結果】 Phx-1 は *in vitro* で濃度依存的に抗腫瘍効果を示し、その作用機序として apoptosis の関与が考えられた。*In vivo* では Phx-1 投与群においてマウスの体重減少などの副作用を示すことなく、腫瘍重量の減少が認められた。組織学的には対照群と比較して Phx-1 では核分裂像が極めて少なく、変性した細胞が多数みられた。免疫組織化学染色では Phx-1 投与群において

Ki67、p53、caspase-3の有意な発現を認めた。

【結論】 Phx-1はY-79に対して抗腫瘍効果を示し、その作用機序としてapoptosisの関与が考えられた。Phx-1は網膜芽細胞腫に対して有効な薬剤と考えられた。

P-3.

増殖因子除去によるアポトーシス誘導における c-Jun N-terminal kinases 活性化の役割

(大学院四年・免疫学)

○寧 月宝

免疫系細胞の増殖は細胞分裂および細胞生存/細胞死のバランスによって調節されている。細胞生存/細胞死を解析するモデルとしてIL-3依存的に増殖するB前駆細胞Baf-3が用いられている。Baf-3細胞は10%牛胎児血清添加RPMI-1640培地にIL-3を含有しているWEHI-3細胞の培養上清(10%)を加えたものを用いて維持した。IL-3を除去すると、24時間以内にBaf-3細胞はミトコンドリア膜電位の低下、annexinV染色陽性、およびトリパン青色素試験陽性を示し、アポトーシスが誘導されていることがわかった。これらの変化に先き立って、c-Jun N-terminal Kinases (JNKs) 活性化が観察された。一方、extracellular signal-regulated kinases (ERKs) の活性化レベルは増殖因子除去前よりも低下していた。JNKおよびERK活性化はリン酸化JNKおよびリン酸化ERKに特異的に反応する抗体を用いたウェスタンブロット法によって評価した。アポトーシス誘導におけるJNK活性化の役割を明らかにするためにJNK抑制剤SP600125を用いて検討したところ、抑制剤処理によって増殖因子除去誘導性アポトーシスが部分的に阻害された。さらに、優性阻害型JNK (dnJNK) を高発現させたBaf-3細胞株は増殖因子除去によって誘導されるアポトーシスに対する抵抗性を示した。これらの結果は増殖因子除去によって誘導されるアポトーシスにはJNK活性化が関わっていることを示唆している。我々のグループはB細胞抗原受容体を介するアポトーシスにはJNK活性化、Baxのミトコンドリアへの移行が関わっていることを報告してきた。以上より、増殖因子除去によりアポトーシス誘導系は抗原受容体を介するアポトーシス誘導系とシグナル伝達因子を共有していることが明らかとなった。

P-4.

ラマン分光分析による臨床使用された人工股関節用 UHMWPE の評価

(大学院単位取得・整形外科学)

○熊倉 剛

(整形外科学)

立岩 俊之、山本 謙吾

(京都工芸繊維大学物質工学)

山田 清高、Leonardo Puppulin、

Giuseppe Pezzotti

【目的】 超高分子量ポリエチレン (以下 UHMWPE) は人工関節摺動面の主流となっており、これまでに様々な研究が行われてきた。UHMWPE は生体内で使用すると摩耗、酸化劣化などを引き起こす事がすでに知られておりこれらの現象を分析、評価することは longevity を追究する点で非常に重要であると思われる。今回我々は、UHMWPE の最表層部のみならず表層下における酸化劣化の評価を、非破壊下にて顕微ラマン分光分析法を用いて得たので報告する。

【方法】 対象は revision を施行した際に得られた計 5 cup であり、すべて γ 線照射量は 33 kGy である。これらの UHMWPE コンポーネントについて顕微ラマン分析を行った。励起源に 488 nmAr⁺ を用い、レーザー出力 70 mW、中心波長 1,300 cm⁻¹、レーザースポット径 1 μ m、積算回数 20 秒 3 回にて測定し結晶分率、非結晶分率、酸化度を求めた。

【結果】 UHMWPE の表面部に比べて内部 (50 μ m 付近) の結晶分率及び酸化度は、いずれのコンポーネントにおいても増加しており、特に長期使用例および wear zone において著明であった。逆に非結晶分率はすべてのコンポーネントで減少しており、特に長期使用例において著明であった。

【考察】 酸化度と結晶分率は正の相関、非結晶分率は負の相関を示すことより、酸化は非結晶層で起こり易く、結晶層では起こりにくいと考えられる。またこれまでの研究では、断面からでしか表層下の測定はできなかったが、今回の非破壊による最表層部から表層下における測定では表面部と比し内部の酸化は 10 μ m レベルからすでに起こってきていると考えられた。

【結論】 抜去された UHMWPE コンポーネントをラマン分光分析により酸化劣化、変性の程度を評価できた。将来的には、臨床的に抜去することなく劣化等の