

II. 特別講演

生体防御のヒヘラルキー構造とその破綻の病態： 階層的メディエーターから見たDIC/MOF 試論

丸山 征郎(鹿児島大学医学部)
臨床検査医学

キーワード：DIC, MOF, トロンビン, トロンボ
モデュリン, アナンダマイド/2-
AG, HMG-1/RAGEシステム

1. 生体防御システムの多層性と各フェーズ間の 共通分子言語

多細胞生物の生態防御系は、【遺伝子レベル】
⇔【細胞レベル】⇔【臓器レベル】⇔【個体レベ
ル】の各階層からなっている複合された、しかし
秩序だった反応である。しかし、より上位の個体
や臓器といえども、基本的には、細胞の集合体で
あるので、細胞レベルの応答の蓄積が量的・質的
違いとなってその上位相の理論と秩序を創ってい
ると考えるべきである。これらのうち、上下の細
胞群間の論理(縦軸)は、ひとつには神経系、あ
と一つにはホルモン系によって形作られているが、
同質レベルの細胞群間(横軸)の論理は、サイト
カインやオートコイド、プロスタグランジンなど
によって形成されている。形式はパラクライン、
オートクライン、ジユクスタクライン、マトリク
ラインなどの様式である。その中で今回は特に、
内因性カンナビノイド(アナンダマイド、2-AG)
という新しく同定された脂質メディエーターが臓
器内、あるいは臓器間のネットワークの分子言語
として使われていることを紹介する。

2. 細胞レベルでの応答の基本スケッチ

生体防御も、環境の読み取りと、それに対する
時々刻々とした反応の様式のひとつであり、単細
胞、多細胞生物を問わず、基本的で、かつ最重要の
生存戦略の一つである。これを細胞レベルでみる
と、環境刺激に対して細胞は、

- 1) 先ずは、細胞膜への刺激に応答して、蓄えて
いる物質(ヒスタミンやヴォンビレブランド因
子など)を放出して対応する、というのが最も、
簡単で、クイックな方法であり、
- 2) 次に、脂質メディエーター(PGやPAFなど)

を膜リン脂質から合成、放出する、というのが2
番目の応答の形式である。

- 3) それでも不十分な場合には、細胞への刺激を
核まで伝達して、転写因子(AP-1, NF-kBなど)
を介した新たな遺伝子の発現、すなわち新たな
タンパクの合成を伴ったより複雑な応答をする、
などというヒヘラルキー(階層的)をもった反応
で対応(生体防御あるいは環境順応)していく。

このような、細胞レベルの応答がさらに重層化
され、多層構造となり、一つの大きな生体防御が
システム化されているものと考えることが出来る。

本講では、DIC/MOF、敗血症性ショックを、生
体防御を司る血小板・凝固線溶系、循環器系など
の破綻の病態として、核レベル、細胞レベル、臓器
レベルで解剖し、試論を展開したい。一言でいえ
ば、上述の複合病態は、細胞間分子言語アナンダ
マイドと核内分子言語HMG-1による情報の破
綻である、という仮説の提案である。

第2回新潟ゲノム医学研究会

日 時 平成14年6月29日(土)
午後1時30分～5時
会 場 新潟大学医学部附属病院
MINCS 新病棟3階

I. 一般演題

1 神経難病専門病院における臨床遺伝子検査の 実際 脊髄小脳変性症からミトコンドリア病 まで

中島 孝・福原 信義(国立療養所犀潟病院)
神経内科臨床研究部)
渡部 弘美 (同 臨床検査科)

当院は神経難病専門病棟を有し、神経難病の遺

伝子診断に基づいて、外来、リハビリテーション、在宅にいたる患者の QOL 向上を行っている。臨床検査科をベースにした臨床 DNA 検査の実際の運用を紹介する。対象疾患は遺伝性脊髄小脳変性症、ハンチントン病、ミトコンドリア脳筋症などである。特に、ミトコンドリア病については既存の点変異のみならず、筋生検や臨床的に疑われた症例についてはミトコンドリア遺伝子全塩基配列決定を行うように努力している。ミトコンドリア遺伝子に類似の pseudogene が核内に存在するために、白血球 DNA の direct sequence では pseudogene の配列を変異と間違える可能性が指摘されている。そこで、long PCR を行いミトコンドリア遺伝子全体 (16569 bp) を二つにわけ (6.5 kb および 11.2 kb) で増幅し (赤沼らの方法) これを template とすることで、核内遺伝子の影響を除いている。

2 増幅によるゲノム DNA の不死化

武井 教展・宮下 哲典 (脳研究所附属生命科学
桑野 良三 リソース研究センター
遺伝子実験部門)

疾患感受性遺伝子を解析する際、染色体全域をゲノム網羅的に解析するためには少なく見積もっても 1 検体あたり数十 μ g という大量のゲノム DNA が必要になる。しかし、ヒトから採取できるゲノム量は有限であり、微小な組織から採取できるゲノム量はさらに限られたものであるため、いずれは貴重なゲノム資源が枯渇してしまうのは明らかである。

当 Niigata Genotyping Center ではこの問題を解決するために、ゲノム DNA の“増幅”、“超微量解析”、“再利用”の確立を目指している。まず我々は現時点で可能な増幅法に着目し、PCR 法をベースとしたゲノム DNA 全領域を増幅する新たな手法を検討している。その手順は“①断片化ゲノムの作製”“②断片化ゲノムの平滑化”“③アダプターの付加”“④高温 PCR による断片化ゲノムの増幅”というものである。この手法の予備実験において約 1000 倍のゲノムの増幅を確

認することができた。この方法が確立されればゲノムの半永久的な利用が期待できる。本研究会ではこの“増幅によるゲノム DNA の不死化”へのチャレンジを紹介する。

3 KCNJ2 の C 末端の遺伝子変異が確認されたアンデルセン症候群の 1 例

保坂 幸男・塙 晴雄
鷲塚 隆・池主 雅臣
阿部 晃・古嶋 博司
山浦 正幸・田辺 靖貴
山下 文男・吉田 剛
渡部 裕・小村 悟
杉浦 広隆・廣野 崇
相澤 義房 (新潟大学大学院
医歯学総合研究科
循環器分野)

【背景】周期性四肢麻痺・心室性不整脈・形態異常を三徴とするアンデルセン症候群は遺伝性疾患であり、最近、内向き整流カリウムチャンネルをコードする KCNJ2 の遺伝子変異が報告された。

【方法と結果】我々はアンデルセン症候群の 1 症例にて臨床的・分子生物学的解析を試み、KCNJ2 の C 末端に新しい遺伝子変異 (G215D) を認めた。心電図では突出した U 波と頻発する心室性期外収縮を認め、心臓電気生理検査にて多形性心室頻拍が誘発された。COS7 細胞を用いた全細胞パッチクランプ法にて変異型単独では電流発現を認めず、野生型との共発現では優性ネガティブ効果を認めた。共焦点蛍光顕微鏡での解析では、野生型と変異型の細胞内輸送に差を認めず、カリウムチャンネルが野生型と変異型の複合体であることが認められた。

【結語】変異型は細胞内輸送で野生型と差を認めず、野生型と複合体を形成し、優性ネガティブ効果を発揮した。本症例の遺伝子変異 (G215D) はアンデルセン症候群の原因と考えられた。

4 指の数を決める遺伝子

堀越 泰三 (厚生連三条総合病院
整形外科)

軸前性多指症は四肢奇形の中で最も多く、ほぼ左右対称性に過剰指 (趾) を生じる。我々は染色体転座を伴う多指症患者および多指変異マウスを