

**PP313** 遺伝子工学の手法を用いた肝細胞不死化の試み：  
渡辺伸和，小田桐弘毅，佐々木陸男  
(弘前大学第2外科)

【目的】不死化遺伝子であるSV40 largeT 抗原 (T 抗原) 遺伝子発現 plasmid (pSVTag) と，albumin の enhancer/promoter により puromycin 耐性遺伝子を発現する plasmid (pAPUR) を co-transfection することで肝細胞の不死化を試みた。【方法】PBS (-) 700 $\mu$ l にラット肝細胞1 $\times$ 10<sup>7</sup> 個および，pSVTag と，pAPUR をそれぞれ90 $\mu$ g, 10 $\mu$ g ずつ混入し，electroporation を行った。遺伝子導入20時間後から selection を開始した。得られた細胞における T 抗原，albumin, AFP, サイトケラチン19 (CK19) の発現を免疫染色等により確認した。【結果】transfection の約3週間後よりコロニーが出現し，総計20クローンを得た。今回，9クローンについて評価し，全てに T 抗原，albumin の発現が確認され，CK19は検出されなかった。3クローンでは AFP の発現も認められた。albumin, AFP の発現は陽性対照より弱かった。【総括】今回得られた細胞は分裂能を有し，全て albumin も発現していた。また，胆管系マーカーである CK19は陰性なため，これらの細胞は肝細胞由来と考えられた。

**PP314** 低酸素条件下培養肝細胞における TGF beta-1 の感受性について：  
柿原直樹<sup>1)</sup>，竹下和良<sup>1)</sup>，石上文隆<sup>1)</sup>，仲 成幸<sup>1)</sup>，山本拓実<sup>1)</sup>，鈴木雅之<sup>1)</sup>，石橋治昭<sup>2)</sup>，谷 徹<sup>1)</sup>，小玉正智<sup>1)</sup>  
(滋賀医科大学第1外科<sup>1)</sup>，能登川病院<sup>2)</sup>)

TGF beta-1は肝細胞の増殖抑制因子といわれているが，そのメカニズムは解明されていない。一方肝再生時には肝細胞は細胞集塊を造り一時的に低酸素状態に陥る。そこで低酸素条件下における増殖期肝細胞の TGF beta-1 に対する感受性の変化を，10日間のラット初代肝細胞培養を用いて検討した。ラット初代肝細胞培養において，増殖期肝細胞数は培養8日目に有意に上昇した。また TGF beta-1及び低酸素条件下では培養2.5, 10日目では80%の肝細胞に apoptosis が誘導されたが，培養8日目には30%と低下した。培養8日目に低酸素条件下で TGF beta-1 を投与すると apoptosis の誘導率は再び80%に上昇した。TGF beta receptor mRNA の発現は培養2.5日目に比べ，培養8日目に低下した。低酸素条件下では低下していた mRNA が再発現した。以上より増殖期肝細胞は TGF beta-1 に対する感受性が低下しているが，低酸素条件下では，TGF beta-1 の感受性が再発現することが明らかとなった。

**PP315** マウスにおける肝部分切除の肝転移増強効果：  
魚谷英之，山下 巖，長田拓哉，岸本浩史，笹原孝太郎，岡本政広，坂東 正，南村哲司，田内克典，坂本 隆，塚田一博  
(富山医科薬科大学第2外科)

【目的】今回われわれはマウス大腸癌肝転移モデルを用い，肝部分切除の肝転移増強効果および肝切除するタイミングを変化させることが腫瘍の肝転移にどのように影響するかを検討した。【方法】マウスはBALB/C マウス用い，また腫瘍細胞は colon26 を使用した。門脈注入は0.2ml あたり1 $\times$ 10<sup>4</sup>個注入した。肝切除は左葉を一括に結紮切除した。門脈注入から21日目に犠死させ体重，肝重量及び肝転移個数を調べた。(実験1) 1群：腫瘍門脈注入群，2群：直後に肝切除した群とした。(実験2) 3群：腫瘍門脈注入群，4群：門脈注入直後に肝切除，5群：2日後に肝切除，6群：4日後に肝切除した群とした。【結果1】肝重量は平均が1.45g に対し3.59g，肝転移個数は平均1.5個に対し35.5個であった。【結果2】3群，4群，5群，6群のそれぞれの肝重量は1.25g, 2.65g, 1.44g, 1.26g，肝転移個数は2.6個，42.9個，3.7個，4.2個であった。【結語】部分肝切除により肝転移は増強した。また肝切除を遅らせることで減弱した。

**PP316** ラット門脈結紮後腫大肝の機能的評価—cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルの解析—：  
永野靖彦<sup>1)</sup>，長堀 薫<sup>1)</sup>，西塚 至<sup>1)</sup>，浜口洋平<sup>1)</sup>，石川 孝<sup>1)</sup>，市川靖史<sup>1)</sup>，渡会伸治<sup>1)</sup>，宮城洋平<sup>2)</sup>，岡崎康司<sup>3)</sup>，林崎良英<sup>3)</sup>，嶋田 紘<sup>1)</sup>  
(横浜市立大学第2外科<sup>1)</sup>，横浜市立大学 医学部 第2病理<sup>2)</sup>，理研，ゲノム科学総研センター 同，筑波セ，生体分子<sup>3)</sup>)

【目的】門脈結紮術後の腫大肝と同じ容積の正常肝とはどちらが機能的に有利であるか検討した。【方法】ラットを用い，以下の90%肝切除群を作成。Portal vein ligation (PVL) 群：70%PVL 後4日目に尾状葉後葉(5%)を2倍(10%)に腫大させ，後葉のみ温存する肝切除。Sham 群：Sham 手術施行後4日目に90%肝切除。両群ともに10%の肝臓が温存されるが，sham 群は正常肝で，PVL 群は腫大肝。1) 生存率，2) PCNA labeling index, 3) サイトカイン (IL-6)，4) cDNA chip (RIKEN mouse 20K array) による遺伝子発現プロファイルと比較。【結果】1) 肝切除後96時間生存率は，PVL 群が良好 (56.3%v.s.26.7%，p<0.05)。2) PCNA labeling index は24時間まで PVL 群が高値 (20%v.s.0%，p<0.05)。3) IL-6は低値 (p<0.05)。4) 遺伝子発現は，PVL 群で電子伝達系酵素，蛋白質合成能の発現が亢進。【結論】門脈結紮後腫大肝は同容量の正常肝よりも過大肝切除に対し機能的に有利である。

**PP317** 膵胆管合流異常症胆嚢粘膜における Bcl-2 発現，telomerase 活性と発癌：  
盛田知幸，市川靖史，神山雅子，石川 孝，神谷紀之，三浦靖彦，浜口洋平，西塚 至，遠藤 格，関戸 仁，嶋田 紘  
(横浜市立大学第2外科)

今回我々は合流異常の telomerase 活性と，Bcl-2 発現を検討した。【対象と方法】合流異常5 (胆嚢癌を伴うもの (合-癌群)：2, 伴わないもの (合-非癌群)：3)，合流異常の無い胆嚢癌 (非合-癌群) 3, 合流異常も癌もない胆嚢 (対照群) 5 である。癌を伴う標本では底部から頸部に癌部とその周辺を含め5ヶ所を，非癌症例では底，体，頸部から3ヶ所を採取した。検討項目は k-ras 変異 (PCR-FLP 法)，p53, Ki-67, Bcl-2 の免疫染色および TRAP assay による telomerase 活性とした。【結果】p53, k-ras の異常は合流，非合流群のいずれでも癌部でのみ認められた。telomerase 活性対照群では認められず，非合流群の癌部では認められたが非癌部では認められなかった。一方合群では癌部，非癌部粘膜ともに高い活性を認めた。Bcl-2 発現は対照群，非合群では発現を認めなかったが，合群では高率に発現を認めた。【考察】合流異常では正常部位でも Bcl-2 発現と telomerase 活性が認められ，これらは k-ras, p53 の異常に先行している。Bcl-2 の発現は引き続き telomerase の活性化とあわせて癌化の早期に関わる重要な現象と考えられた。

**PP318** 食道癌の術前診断と術後再発における全身 FDG-PET の有用性：  
中島政信<sup>1)</sup>，加藤広行<sup>1)</sup>，宮崎達也<sup>1)</sup>，吉川美奈子<sup>1)</sup>，深井康幸<sup>1)</sup>，神山陽一<sup>1)</sup>，田嶋公平<sup>1)</sup>，増田典弘<sup>1)</sup>，塚田勝彦<sup>1)</sup>，小山恵子<sup>2)</sup>，井上登美夫<sup>2)</sup>，遠藤啓吾<sup>2)</sup>，桑野博行<sup>1)</sup>  
(群馬大学第1外科<sup>1)</sup>，核医学科<sup>2)</sup>)

【目的】食道癌における全身 FDG-PET を用いた [1] 術前の原発巣及びリンパ節転移診断，[2] 術後再発を評価し，その有用性を検討する。【方法】[1] 1998年以降に術前 PET を施行し，根治術を行った23例と，[2] 術後に PET を施行した15例を対象とした。FDG を静注後 scan を行い standardized uptake value (SUV) を算出した。判定は補正後の SUV > 2.0 を陽性とした。【結果】[1] 原発巣は23病巣中15病巣 (65.2%) が PET 陽性であり，壁深達度と PET 陽性率との相関が認められた (p<0.05)。リンパ節転移診断の sensitivity, specificity は PET が (57.1%, 97.5%) で，CT が (42.9%, 92.2%) であり，両者を併用すると (77.1%, 94.7%) となり，sensitivity で向上が認められた。[2] 術後 PET を施行した15例中7例 (11部位) に集積陽性を認め，そのうち6例 (9部位) を転移陽性と判断した。【総括】全身 PET は術前食道癌の進行度診断に有用であり，術後経過観察においては体幹全体を網羅した検討が可能であることが示唆された。