

常識を見直してみよう！

The Unanswered Question

第 26 回東日本外来小児科学研究会

プログラム

平成 22 年 10 月 24 日

午前 10 時 ~ 午後 5 時

THE UNANSWERED QUESTION (I)

Charles E. Ives (1896)

Edited by Paul C. Stebbins and Noel Zahler

Adagio (♩ = about 60-80)
(Strong quarter length very exact time; Note quarter length very various time)

Violin 1
Violin 2
Viola
Violoncello
(10 B. of 1914 ed. ed. ed.)

ff con sordillo
ff con sordillo
ff con sordillo
ff con sordillo

Trumpet in C
or
Chorus

Adagio

ff

13

17

19

15

16

18

19

Copyright 1983 by Academic Music Publishing Co., Inc.
Copyright Renewed by their International Copyservice
© Copyright 1986 by Paul C. Stebbins & Noel Zahler
All Rights Reserved including the Right of Performance

WARNING: Any person who makes or arranges all or part of the works or parts of the musical compositions shall be liable to an action for damages, damages and profits under the United States Copyright Law.

葛飾区医師会館
東京都葛飾区立石 5-15-12

代表世話人
松永貞一
(永寿堂医院・葛飾区)

主催：東日本外来小児科学研究会
後援：葛飾区医師会

研究会次第

10時 開会

テーマ1【うそをつかない医療】

医療者が気付いていない点、気付いて欲しい点、気付かなくてはいけない点
病院のセーフティマネージャーの目を通して見えたもの
豊田郁子（新葛飾病院 セーフティマネージャー）

11時

一般演題1

尿路感染の診断の基準を再考する
原朋邦（埼玉県所沢市 はらこどもクリニック）

一般演題2

考える感染症治療 感染免疫と37年付き合っ
て
松永貞一（東京都葛飾区 永寿堂医院）

【特別依頼演題】

予防接種ワクチンの公費助成はなぜ進まないか
- 政策過程、公共の意思決定過程を踏まえて -
（東京都議会議員 東京都議会・厚生委員会委員）

12時

昼休み・昼食

13時

世話人会挨拶
次期会長挨拶

一般演題3

五感を通じた診察室コミュニケーション
杉原 桂（東京都多摩市 多摩ガーデンクリニック）

13時30分

【特別招待講師講演】

「医療」と政治。その建前と本音
川田龍平
（参議院議員）

15時

テーマ2【僕らが診ている喘息は、本当に気管支喘息か？】

講演1 小児の気管支喘息診療におけるピットフォール
下条直樹（千葉大学大学院医学研究院小児病態学）

講演2 プライマリーケアにおける気管支喘息診療は正しいか？
西村龍夫（にしむら小児科）

17時 閉会

テーマ1【うそをつかない医療】

医療者が気付いていない点、気付いて欲しい点、気付かなくてはいけない点
病院のセーフティーマネージャーの目を通して見えたもの
豊田郁子

新葛飾病院 セーフティーマネージャー

私のこれまでの活動は、医療事故で幼い息子を亡くした経験から「もうだれも医療で傷ついてほしくない」という思いからスタートしています。病院の不誠実な対応に傷つき、辛く悲しい経験をしましたが、同じような経験をされた遺族の方々と再発防止を願った活動を始め、それらの活動で出会った心ある医療者の存在が、私たち遺族の心を回復させることにつながっていききました。

2004年に入り、新葛飾病院の清水陽一院長から「患者の視点で病院内の医療安全活動を担ってほしい」と依頼されたことから、セーフティーマネージャーとして病院の医療安全を担当していますが、この職に就いてから感じていることは、医療者側が想像する患者・家族の感情は、実際の患者・家族の気持ちとかなり乖離しているのではないかということでした。

医療の安全という幅広い領域のなかで、医療について素人の私に求められているのは何か、私にできることは何なのかを考えながら仕事をしていくなかで、まず患者・家族の声を医療者に伝え、患者・家族とのコミュニケーションを促す必要があるということ、そしてそのコミュニケーションをどうつくっていくか、その方法を示し、手助けしていくことが、医療安全につながっていくのだと考えるようになりました。

当日は、病院のセーフティーマネージャーとして実践している立場から、医療者が気付いていない点、気付いて欲しい点、気付かなくてはいけない点などについて、お話をさせていただきたいと思います。

* 新葛飾病院医療安全対策室 HP

<http://www.shinkatsu-hp.com/busho/taisaku/>

* 架け橋～患者・家族との信頼関係をつなぐ対話研究会

<http://medmed2008.blog43.fc2.com/>

【著書】うそをつかない医療 患者と医療者をつなぐ仕事（亜紀書房）

一般演題 1

『尿路感染の診断の基準を再考する』

原朋邦

(埼玉県所沢市 はらこどもクリニック)

私は、乳幼児ではアトム栄養チューブ3号を用いて導尿をして採尿 直ちに、生理食塩水で混合希釈を行い、ベクトンデッキンソン社製 クロームアガールオリエンテーション培地を用いて培養をします。これで、翌日には菌種の推定、菌数わかります。感受性はBMLに 外注しています。尿検査は使い捨て計算版であるコバシステムを用いて尿中の1 μ ?

あたりの白血球数を非遠心沈殿尿で測定し、遠心尿で白血球円柱の有無を検査し、白血球10個/ μ ?以上の尿については尿中の 2マイクログロブリン、NAGをクレアチニン比で測定し、高い値を示す症例については小児泌尿器科に紹介し膀胱造影検査を行って貰っています。よく尿路感染の診断に菌数1mlあたり10の5乗以上をあげてありますが診断基準として曖昧であると考えています。

一般演題 2 (代表世話人講演)

『考える感染症治療 感染免疫と37年付き合って』

松永貞一

(東京都葛飾区 永寿堂医院)

【「風邪に抗生物質を使わない」は、正しいか?】抗生物質に、殺菌作用以外の側面から光を当ててをお願いしていた東京慈恵会医科大学臨床検査医学教室准教授の保科定頼先生は、健康上の理由で、今回のご講演は無理と判断され、とても残念ですが中止となりました。このテーマは、今回、是非、かつての同僚であり、一緒に実験台に並んで試験管を振った戦友である保科先生にお話いただきたかったのですが、とても残念です!誰か代理の講師をとも考えたのですが、古女房とも言える人間に代わる研究者がそうおいそれと見つかる訳は無く、仕方なく、僕が保科先生に喋って欲しかったことを、今回、代表世話人講演としてお話をさせていただこうと思います。ここで言いたいことは、医学なんだから、そして社会運動ではないのだから「風邪に抗生物質を使わない」なんてスローガンにしたがって医療をするのは止めよう。抗生物質だって、単に殺菌物質ではなくて色々な作用があるではないか!その多彩な作用を持つ抗生物質を、その多彩な作用を知って使い分けては?というのが【僕の皆さんへのUnanswered Question】なのです。権威に盲従する医療から考える医療へ!が、僕の主張であり、今回のこの会全体のテーマでもあるのです。

この冊子の最後に、本来、ここで話いただく予定であった予稿集に掲載した保科定頼先生の抄録を再掲する。

特別依頼演題

『予防接種ワクチンの公費助成はなぜ進まないか - 政策過程、公共の意思決定過程を踏まえて -』

佐藤 由美

(東京都議会議員 東京都議会・厚生委員会委員)

1. はじめに

松永先生にお会いをする中で、様々な話題の中、「予防接種ワクチンの公費助成はなぜ進まないか」というお話をいただき、そして、本日の「第26回東日本外来小児科学研究会」を開催するにあたり、超党派での勉強会にしたい、川田龍平さんの前座、引き立て役になってくれとお話をいただきました。なぜ私が引き立て役に？私は政権交代の前哨戦が役割のひとつであったことを振り返りつつ、民主党がみんなの党の引き立て役になる？というのは冗談のような冗談でないような感じですが、松永先生のひとえにお人柄に、お役目しっかり果たすべく、参りました(笑)。10分15分、少しのお時間おつきあいください。

私からは、松永先生の課題に向けて、「政策過程・意思決定過程」のモデル、あるいは、個別ケースについてご紹介をしたいと思います。

前職司法制度改革が進む中、ここでは24本の法律が成立したのですが、これに取り組んで来たことから、これをモデルイシューとして、社会的課題が立法へつながる過程、事例について、ご報告をいたします。

次に、現在東京都議会議員として、この1年経過した中で、本会議質疑、厚生委員会委員として審議、執行部側とのやりとりから、自治体の2元代表制の構造、国・都・市区町村との関係について、ご報告します。そうした中で、みなさんと改めて、社会的課題に向けた政策過程・意思決定過程の現状と課題、ではどうすればいいのか、皆さんと考えていきたい、今後の方向性について確認をしたいと思います。

2. 政策過程論

公共的意思決定システムにかかる先行研究

(1) 「政治過程論」... 政策がどのような政治的文脈で、どのように形成され、執行され、どのような権力再分配的な意味を持つか扱う*1

イシュー・アプローチ

政策エリート・サーベイアプローチ

イシュー・エリア・アプローチ

3. 社会的課題の立法事例から

(1) 司法制度改革 総合法律支援法・民事法律扶助法

(2) がん対策基本法、犯罪被害者等基本法、児童虐待防止法、DV防止法制定

(3) 緊急雇用対策・セーフティネット再構築(派遣村)

4. 東京都議会

(1) 予算過程

(2) 自治体二元代表制 予防接種に関して

(3) 国・都・市区町村

5. おわりに

昼休み

世話人会報告

横田俊一郎

次期代表世話人挨拶

一般演題 3

『五感を通じた診察室コミュニケーション』

杉原 桂

(東京都多摩市 多摩ガーデンクリニック)

医療は患者とのコミュニケーションを抜きにしては語れない。にも関わらず、医学技術がコンテンツとすれば、コンテキスト部分を学ぶチャンスは非常に少ない。その結果、教授や数名のサンプルモデルしか知らないままに自分の我流で行っていることになる。アリストテレスが記述したように、私たちは五感というセンサーがある。そのセンサーを通じて外界の情報を取得する。脳内でもその五感を活用して脳内世界を構築し意味付けを行っていく。この時に人によって脳の使い方が異なるためにミスコミュニケーションが発生することが少なくない。医学用語などがあればなおさらである。今回は神経言語プログラミングの概念を利用して五感を通じた構造的コンテキストを紹介する。明日からの臨床を見直すきっかけ作りになれば幸いである。

【特別招待講師講演】

『「医療」と政治。その建前と本音』

川田龍平

(参議院議員)

テーマ2【僕らが診ている喘息は、本当に気管支喘息か？】

小児の気管支喘息診療におけるピットフォール

下条直樹（千葉大学大学院医学研究院小児病態学）

小児期の反復する喘鳴の多くは日常診療において気管支喘息と診断・治療される可能性が高い。喘鳴は、ゼーゼーといった低音性からヒューヒューという高音性まであり、また呼気性、吸気性、呼気吸気性に分かれ、喘息の診断に重要な情報である。しかしながら、日中に診療を行なっている医師は、診察時に喘鳴を聞くことは実際は少ない。従って保護者の話に基づいて喘鳴の性状を把握することになるが、保護者が喘鳴について正確に理解していることは必ずしも多くはないのが実情である。保護者がゼーゼーといっても、詳しく聞いたり、自分で喘鳴を出してみても尋ねると、かなりの場合にゼロゼロであったりする。さらに、喘鳴が吸気性か呼気性のどちらであるかも理解していない保護者も非常に多い。

日本小児アレルギー学会による小児気管支喘息治療・管理ガイドライン 2008 (JPGL2008) では3回の呼気性喘鳴をまずは喘息として治療を考えることになっているが、保護者からの情報を正確にとらないと喘息の診断が多くなりすぎることになる。特に乳幼児期は気道感染に伴って喘息と区別できない臨床病態を示すことがあるため、乳幼児喘息の診断は必ずしも容易ではない。JPGLを含め多くのガイドラインは、乳幼児喘息に対してできるだけ早期に良好なコントロールのための治療を開始したほうがよいという考えに基づき、「喘鳴を繰り返す」ということを乳幼児喘息の診断の要件としているが、その診断を補完するものとして、アトピー素因を示す既往歴、家族歴、IgE抗体価などを参考にすべきとしている。これらの因子が存在しない場合には、喘息の診断は注意して行う必要がある。乳児期の喘息の鑑別診断としては、JPGL2008では喉頭・気管軟化症、血管輪、胃食道逆流症などがあげられているが、これらも必ずしもまれではない。また副鼻腔は3歳を過ぎないと発達しないと一般的は言われるが個体差が大きく、1歳代でも副鼻腔炎による反復性喘鳴もみられる。

このように小児期（特に乳幼児期）の喘息の診断は必ずしも容易でないことを念頭に置き、治療的診断を行うにしても一定の期限で再評価を行うことで適切な診断と治療方針を立てることが必要と思われる。

プライマリーケアにおける気管支喘息診療は正しいか？

西村龍夫（にしむら小児科）

プライマリーケアを受診する乳幼児の多くはウイルスによる呼吸器感染症である。乳幼児は気道が狭いという解剖学的特性から喘鳴をきたしやすいが、低年齢になればなるほど喘鳴の原因は多岐に渡り、診察のみで原因を究明するのは困難である。乳児期から保育所などで集団生活をする児や、保育所に通所している兄弟がいる児では、肺炎球菌やインフルエンザ菌の保菌者となるために慢性の鼻副鼻腔炎となり、その上からウイルス感染を反復するために、鼻副鼻腔炎、副鼻腔気管支炎からの喘鳴を多々経験する。また、ウイルスによっては下気道炎を起こしやすく、RSウイルスやヒューマンメタニューモウイルスなどの流行期には多くの受診患者で喘鳴が聴取される。

特にRSウイルス感染症はその免疫学的特異性から感染後も気道の過敏性が亢進し、喘鳴や咳嗽を反復することが知られている。これはReactive airway disease (RAD)と呼ばれており、Martinezらの提唱した気管支喘息の表現型のひとつであるTransient early wheezing群の中核をなす病態である。多くは学童期までに喘鳴を繰り返すことはなくなり、成人では健常人と呼吸機能の差はない。本当に治療が必要な気管支喘息児はアトピー型喘息（持続型喘息）であるが、

プライマリーケアの現場で経験する多くの喘鳴児の中から持続型喘息児をピックアップすることは極めて困難である。

海外のガイドラインでは喘息は基本的に over diagnosis するように勧告されている。しかし、わが国の医療制度は世界一医療機関へのアクセスが良く、外来受診率は海外の数倍から十数倍にも達する。軽症患者が多数受診している中で、over diagnosis を行えば cost-benefit の悪化や、軽い症状でも治療しなければならないと思わせることで保護者の不安感を煽ることになってしまうことも問題となる。

日本小児アレルギー学会による小児気管支喘息治療・管理ガイドライン 2008 (JPGL2008) では 3 回の呼気性喘鳴を喘息として治療を考えることになっている。これは喘息専門医が重症喘息への対応を念頭に作った基準であると思われるが、プライマリーケアを受診する喘鳴患者と専門病院を受診する喘鳴患者の重症度はかけ離れており、将来の持続型喘息のリスクは同じではない。プライマリーケアでは、プライマリーケアのデータに基づいた独自のガイドラインが必要であると思われる。

補遺 今回、未発表に終わった講演の抄録

テーマ3 【「風邪に抗生物質を使わない」は、正しいか？】

抗生物質に、殺菌作用以外の側面から光を当てて

保科定頼（東京慈恵会医科大学 臨床検査医学教室）

2010年度から韓国のSeegene社のマルチプレックスPCR/RT-PCRキットと島津製作所のマイクロチップ電気泳動装置「MultiNA」を用いて検出した起因病原体遺伝子同時検出を試みている。呼吸器感染症では鼻前庭からスワブを用いて鼻汁を採取してRNA安定化溶液を用いて-20℃にしたものを解凍後、Magtration System 6GC (Precision System Science社)を用いてDNA/RNAを取り出した。血流感染症ではFebreil neutropenia(好中球減少症)の発熱や肺炎症状の腫瘍・血液内科入院患者、外来小児熱発例の患者血液を1mL採血し、そのまま凍結したDNAを標的に細菌、真菌を対象に同様な検出系を用いた。結論を急ぐと多くの感染例で呼吸器感染、血流感染にかかわらず複数種類の起因病原体が係わった病態が見られた。

一方、マクロライド系抗菌薬ロキシシロマイシン(RXM)とその対照薬エリスロマイシン(EM)の14員環構造には側鎖: $\text{NOCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$ の違いがあるだけだった。細胞内Cキナーゼ(protein kinase C)(PKC)はカルシウムイオンとリン脂質によって活性化されることと発癌プロモーターが結合し活性化することが知られている。*Bacteroides* speciesが産生するfaecapentaene-12はグルタチオンに結合してS分子の枯渇をきたす一方、リン脂質の代わりにPKCを活性化する。こう考えると14員環構造と側鎖が形成する構造がリン脂質の代わりにPKCを活性化する要因のように思えてならない。

貪食細胞内でRXMが細胞内シグナル伝達を刺激して積極的に呼吸器感染症原因菌を取り込むと細菌16Sr ribosomal RNAによる翻訳と翻訳後修飾が阻害を受けて殺菌される機作を考えてみた。

呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出

【目的】 インフルエンザの早期診断は迅速な治療を行う上で重要であり、同時に呼吸器感染症起因病原体の検出動向を知る要望が増してきている。培養なしで呼吸器感染症の代表的な細菌種とカゼ症候群ウイルス、インフルエンザウイルスを同時に遺伝子検出する検査システムを用いて、起因病原体検出を試みた。

【方法】 Seegene社のマルチプレックスPCR/RT-PCRキット3種(Seeplex® RV12, PneumoBacter, Flu-A/B typing)を利用し、島津製作所のマイクロチップ電気泳動装置「MultiNA」を用いて検出した。DNA/RNA抽出は鼻腔ぬぐい液をエスプライン®A&B-N(富士レビオ社)またはラピッドテスト®FLUスティック(積水メディカル社)を用いて迅速診断に供した残液(100~150µL)にRNA安定化溶液を3倍量加えて-20℃に保存したものを解凍後、Magtration System 6GC (Precision System Science社)を用いて行った。

【対象】 09年9月から12月、2010年2月の慈恵医大柏病院に主に外来受診した患者56名(小児科27名、内科系22名など)である。09年9月-12月は主に小児科からの検体であった。

【結果と考察】 検出キット3グループ(肺炎起因細菌群、インフルエンザウイルス: Flu-A_{pdm}H1, H3, Seasonal H1, A(MP), B(MP)、カゼ症候群ウイルス)別に集計したところ、最多検出の起因病原体は*S. pneumoniae* 18例であった。パンデミック時(09年9-12月)はFlu-A_{pdm}H1が多かったが、終息後はそれに代わってRSウイルス/*S. pneumoniae*の検出が増加した。ウイルス/細菌の複合感染が多く見られた。

血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

【目的】 血流感染症(polymicrobial nosocomial bloodstream infections (BSIs))の細菌・真菌検査は血液培養法で行われている。培養なしでBSIsの代表的なグラム陰性、陽性細菌と真菌をSeegene社の血流感染症検査キットおよび島津製作所の電気泳動装置を用いた感染症微生物検査システムを

用いて検出を行った。それらの性能評価と考え方を検討した。

【方法】DPO(Dual Priming Oligo Nucleotides) マルチプレックス PCR を利用した血流感染症検査キット、マイクロチップ電気泳動装置「MultiNA」を用いて検出した。DNA 抽出は EDTA 処理全血 1 mL をジルコニアビーズ添加ビーズ・ビーターで破碎し Magtration System 6GC (Precision System Science Co. Ltd) を用いて行った。Primer mixture (細菌および真菌共通配列と属グループ配列、種特異配列) をそれぞれ用いて、上記遺伝子増幅により網羅的に陽性像を確認した。

【対象】Febreil neutropenia(好中球減少症)の発熱や肺炎症状の腫瘍・血液内科入院患者、外来小児熱発例の患者血液を 1mL 採血し、病原体遺伝子の確定を行った。白血球数、CRP、エンドトキシン、-D グルカン、プロカルシトニンの各値を参考にして血流感染発症時期の患者とした。

【結果】血液培養検査で陽性例が 3 例認められた 35 名の患者血液 DNA 抽出液から 21 名で病原体 DNA が検出された。属グループ・プライマーでの検出例、菌種プライマー検出例がみられ、それらの複数菌検出例が多く認められた。

【考察】血流感染症発症時期と認められる患者 1 mL 血液を DNA 抽出後に微生物の包括的遺伝子確定を行った。迅速でより生体内の病原体の動きを明らかにできる可能性が見えてきた。

ロキシスロマイシンによる C キナーゼ活性化と HL60 前骨髄芽球性白血病の分化誘導

【目的】

ロキシスロマイシン(RXM)はエリスロマイシン(EM:14 員環)の 9 位ケトン基をオキシム化、アミノ化することにより側鎖を付加したものである。この側鎖： $\text{NOCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$ および 14 員環マクロライド分子が、C キナーゼ(protein kinase C: PKC)分子に結合しリン酸転移酵素活性化を行うかを検討した。また、これらのマクロライドが前骨髄芽球性白血病細胞(HL60)の分化誘導を行うことを見出し、PKC 活性化との関係についても考察を加えた。

【方法】

1. PKC 活性化の測定：PKC アッセイキット(アマシャム)を用いて行った。基質ペプチドに上皮細胞増殖因子受容体(EGFR: RKRTLRL)の合成ペプチドを用い、 $[^{32}\text{P}]\text{ATP}$ が転移される量をシンチレーションカウンターで測定した。RXM, EM はホスファチジルセリンの代わりにもちい PKC 活性化を検討した。

2. 細胞培養：ヒト前骨髄芽球性白血病細胞 HL60 を国立衛生試験所より分与を受け、RPMI1640(日水製薬(株))に 10%ウシ胎児血清、2mM の L-グルタミンを添加して 5%CO₂加、37 にて培養した。3 日毎に 1×10^5 cells/mL になるように細胞を接種し、その時 RXM, EM は 250 μM になるように加えた。

3. CD11b の発現：RXM, EM 処理をした細胞は 24 時間と 48 時間後に PBS で洗浄後、抗 CD11b 蛍光標識モノクローナル抗体を反応させ、細胞数 5,000 を FACScan を用いフローサイトメトリーで解析した。

4. 貪食能の測定：蛍光着色微粒子(Fluoresbrite Carboxylate Microspheres 直径 1.75 μm , ポリサイエンス社)を RXM, EM 処理 2 日後の細胞に 5×10^5 /mL になるように加え、24 時間さらに培養した。PBS 洗浄後、FACScan にて粒子数を測定した。

5. 細胞周期の測定：細胞周期分析キット(アマシャム)を用いて行った。RXM, EM 処理 2 日後の細胞を PBS で洗浄後、propidium iodide で染色し FACScan で DNA 量を測定した。

【結果】

1. PKC 活性化の測定： $[^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を用いたアッセイでは 100 μM で RXM, EM ともに同様な PKC 活性化能を示し、対照の 10 μM ホスファチジルセリンによる活性化とほぼ同様な活性がみられた。

2. HL60 細胞の表面抗原 CD11b 発現

未処理 HL60 前骨髄芽球細胞は CD11b を発現していないが(陰性コントロール)、8nM TPA(phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)を作用させた 24 時間、48 時間後では CD11b の発現が見られた(陽性コントロール)。一方、1.5%DMSO では CD11b の発現はほとんど見られなかった(陰性コントロール)。250 μM RXM では 24 時間後ですでに CD11b の発現がわずかに見られ、48 時間後では

明らかに発現がみられ、単球への分化誘導が観察された。250 μ M EM ではわずかな CD11b の発現が見られた。

3. 貪食能の測定：未処理 HL60 細胞は貪食能がみられないが（陰性コントロール）、8nM TPA を作用させると、24 時間後に蛍光着色粒子を加え、さらに 24 時間後に観察すると貪食能がみられた。蛍光着色粒子の細胞内取り込みが観察された。1.5%DMSO ではわずかな取り込みが観察され、それは 250 μ M RXM、250 μ M EM とほぼ同様であった。

4. 細胞周期の測定：表より HL60 細胞は 8nMTPA 処理で G₁ 期細胞が陰性対照の 49.0%から 84.6%に上昇したことから G₁ 期停止が観察された（陽性コントロール）。250 μ M RXM 処理では G₁ 期停止が 57.9%に上昇し、G₂+M 期は陰性対照群の 9.1%から 5.3%に減少したことから G₁ 期停止が誘導されたと考えられた。250 μ M EM 処理では G₁ 期 52.1%にみられ、陰性対照の 49.0%より若干増加したことがみられ、G₂+M 期は 9.1%から 10.1%に上昇し、G₂+M 期停止もみられた。

【考察】

以前の報告では 100 μ M RXM 処理 HL60 細胞は 48 時間後に細胞分裂が停止し、染色体の分裂が停止しない状況がみられた（多核細胞化）。今回の 250 μ M RXM を処理した HL60 細胞では 48 時間後に DNA 複製が停止し G₁ 期停止をきたしたことから多核細胞化は観察されず、むしろ CD11b の発現、貪食能の出現といった単球への分化誘導が明らかに認められるに至った。この RXM 濃度からすると細胞毒性もわずかに観察された。一方、PKC に対しては 100 μ M RXM が活性化を起こしたことから RXM が HL60 細胞内に入って PKC 活性化を起こし、分化誘導につながったと考えられる。TPA は PKC 活性化能があり、同様に HL60 細胞の分化誘導を行うことが知られているが、RXM はほぼそれに近い機作を介していると考えられる。HL60 細胞はビタミン D3 によって PKC、PKC のタンパク質量が増加し、さらに Ca²⁺、リン脂質依存性の PKC 活性化が起こる。100 μ M RXM によって弱く PKC を活性化すると、細胞分裂の停止は見られるが細胞周期は停止せずに回転し続ける。250 μ M RXM は PKC をよく活性化し、細胞分裂は停止し、細胞周期も G₁ 期で停止し、表面抗原の CD11b の発現や貪食能の出現など HL60 細胞の単球への分化が認められた。

250 μ M EM では PKC をよく活性化するが 250 μ M RXM と違って細胞周期は G₁ 期と G₂+M 期で停止することが見られ、表面抗原 CD11b の発現や貪食能の出現など HL60 細胞の単球への分化は弱いものであった。これらの事実から 250 μ M RXM の PKC 活性化は特異性があり、TPA による分化誘導に似た現象が観察された。250 μ M EM はおそらく他のリン酸転移酵素も活性化し、G₂+M 期での細胞周期の停止をきたし、単球への分化とは異なる分化誘導を行っているものと考えられた。

【文献】

1. Sadayori Hoshina, Marius Ueffing, Masami Morotomi, and I. Bernard Weinstein Effect of a fepentaene on protein kinase C Biochemical and Biophysical Research Communications 1991 Vol. 176. No.1. 5050-510.

2. Jian-Hua, Scott Kahn, Kevin O' Driscoll, and I. Bernard Weinstein The regulatory domain of protein kinase C 1 contains phosphatidylserine- and phorbol ester-dependent calcium binding activity The Journal of Biological Chemistry 1993 Vol. 268, No.5, pp3715-3719.

3. Makoto Nagai, Hisashi Yamada, Shuji Nakada, Keiko Ochi, Tadashi Nemoto, Shinobu Takahara, Sadayori Hoshina and Junko Horiguchi-Yamada A Macrolide antibiotic, roxithromycin, inhibits the growth of human myeloid leukemia HL60 cells by producing multinucleate cells Molecular and Cellular Biochemistry 144: 191-195, 1995.

4. Owen C. Blair, Rocco Carbone, and Alan C. Sartorelli Differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells: simultaneous determination of phagocytic activity and cell cycle distribution by flow cytometry Cytometry 7: 171-177 1986.

5. W. Lee Hand, Neva King-Thompson, and John W. Holman Entry of Roxithromycin(RU965) Imipenem, Cefotaxime, Trimethoprim, and Metronidazole into human polymorphonuclear leukocytes Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1987. Vol. 31, No.10, 1553-1557.

講演スライド集

すでに
さとう（1枚）と
西村（47枚）は
頂いている

スライドを1ページ6枚で印刷して添付予定。