

D. 考察

平成 20 年度は、手術標本から得られる脂肪幹細胞の培養系の確立を目的とした。その結果、得られた脂肪幹細胞はその形態からも中胚葉系の細胞であることが予想され、脂肪前駆細胞用培養液中で増殖可能であることが確認された。また、培養された細胞は、脂肪細胞分化培地中で脂肪滴を蓄積することが確認され、脂肪幹細胞であることが証明された。以上の結果から、手術検体から無菌的に脂肪幹細胞を入手する手法が確立できたといえる。しかしながら、培養系に移された脂肪幹細胞は限定的な増殖能を持つことが明らかになり、培養開始 9 日目にはその増殖能が低減し、多くの細胞は形態的にも増殖を停止した細胞の特徴を示していた。このようなことから、単離された細胞は、脂肪幹細胞の系統にはありながらも、細胞系譜上の位置は幹細胞よりも下位であることが予想された。そこで、手術検体から単離された細胞を、高度にその活性を維持したまま培養できる環境を模索した。とくに、脂肪前駆細胞培地中には牛胎児血清 (FBS) が含まれることに着目し、FBS 中に含まれる細胞増殖に負に働く成分のことを鑑み、無血清培地を用いた脂肪幹細胞の維持を試みた。その結果、胎児性幹細胞培養に用いられている培養液が、脂肪幹細胞の増殖を高度に維持できることを見いだした。培養された細胞は、より脂肪幹細胞に近い位置の細胞である可能性が高く、場合によっては、リプログラミングにより、体性幹細胞に近い細胞にまで初期化されている可能性まである。もしそうだとすると、単に Lipodystrophe の基本原理の理解に貢献するだけでなく、HIV 治療薬

による他の臓器の障害に対する再生医療への応用も視野に入ってくることから今後の展開が期待される。

E. 結論

手術検体から得られた脂肪幹細胞を *in vitro* で培養した結果、細胞の増殖分裂能を確認した。また、脂肪細胞分化培地中で維持することにより、脂肪細胞へと分化することも確認した。さらに、単離した脂肪幹細胞を高活性の状態でも長期間増殖維持できる培養環境の確立に成功した。以上の結果により、今後の HIV 感染患者由来細胞における検討に必要な基盤的技術が確立された。

F. 健康危機情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Akilzhanova A, Takamura N, Kusano Y, Karazhanova L, Yamashita S, Saito H, Aoyagi K: Association between C677T/MTHFR genotype and homocysteine concentration in a Kazakh population. *Asia Pac J Clin Nutr* 17(2): 325-329, 2008
2. Kobayashi J, Iwabuchi K, Miyagawa K, Sonoda E, Suzuki K, Tanaka M, Tauchi H: Current topics in DNA double-strand break repair. *J Radiat Res* 49(2): 93-103, 2008
3. Naruke Y, Nakashima M, Suzuki K, Matsuu-Matsuyama M, Shichijo K,

- Kondo H, Sekine I: Alteration of p53-binding protein 1 expression during skin carcinogenesis: association with genomic instability. *Cancer Sci* 99(5): 946-951, 2008
4. Nakazawa Y, Saenko V, Rogounovitch T, Suzuki K, Mitsutake N, Matsuse M, Yamashita S: Reciprocal paracrine interactions between normal human epithelial and mesenchymal cells protect cellular DNA from radiation-induced damage. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 71(2): 567-577, 2008
 5. Takakura S, Mitsutake N, Nakashima M, Namba H, Saenko VA, Rogounovitch TI, Nakazawa Y, Hayashi T, Ohtsuru A, Yamashita S: Oncogenic role of miR-17-92 cluster in anaplastic thyroid cancer cells. *Cancer Sci* 99(6): 1147-1154, 2008
 6. Haugen BR, Cooper DS, Emerson CH, Luster M, Maciel RM, Biscolla RP, Mazzaferri EL, Medeiros-Neto G, Reiners C, Robbins RJ, Robinson BG, Schlumberger M, Yamashita S, Pacini F: Expanding indications for recombinant human TSH in thyroid cancer. *Thyroid* 18(7): 687-694, 2008
 7. Hamamoto T, Suzuki K, Yamauchi M, Kodama S, Sasaki H, Watanabe M: p53 status-dependent sensitization of human tumor cells to hyperthermia by plant flavonol. *Int J Hyperthermia* 24(5): 415-424, 2008
 8. Makino S, Mitsutake N, Nakashima M, Saenko VA, Ohtsuru A, Umezawa K, Tanaka K, Hirano A, Yamashita S: DHMEQ, a novel NF- κ B inhibitor, suppresses growth and type I collagen accumulation in keloid fibroblasts. *J Dermatol Sci* 51(3): 171-180, 2008
 9. Akilzhanova A, Takamura N, Yamashita S: Effect of folic acid and B vitamins on cardiovascular disease in women. *JAMA* 300(12): 1409-1410, 2008
 10. Meng Z, Mitsutake N, Nakashima M, Starenki D, Matsuse M, Takakura S, Namba H, Saenko V, Umezawa K, Ohtsuru A, Yamashita S: DHMEQ, a novel NF- κ B inhibitor, enhances antitumor activity of taxanes in anaplastic thyroid cancer cells. *Endocrinology* 149(11): 5357-5365, 2008
 11. 鈴木啓司, 山内基弘, 山下俊一
長崎大学 X線マイクロビーム照射装置.
放射線生物研究 43(2): 185-190, 2008
 14. 山下俊一
放射線の光と影; 世界保健機関の戦略.
日本臨床内科医会誌 23(3): 280, 2008
 15. 光武範吏, 山下俊一
放射線被曝による小児甲状腺癌と RET 遺伝子異常.

細胞 40(14): 20-23, 2008

2. 学会発表

1. Suzuki K, Oka Y, Yamauchi M
Mechanism of radiation-induced cell death via mitotic catastrophe.
The 5th International Symposium "Radiation and Cancer",
January 23-24, Hiroshima, Japan, 2008
2. 山下俊一
WHO, IAEA のチェルノブイリ事故の健康影響調査プログラム.
放影協シンポジウム 2008 「チェルノブイリ事故の健康影響調査 20 年」(東京), 1 月 15 日, 2008
3. Yamashita S
Molecular Epidemiology of Childhood Thyroid Cancers.
Organization Meeting and Commemorative Congress of the Korean Thyroid Association,
February 18, Seoul, Korea, 2008
4. Suzuki K, Yamauchi M
DNA damage checkpoint activation coupled with DNA double strand break repair.
The first Maintenance of Genome Stability International Symposium,
March 4-7, Puerto Vallarta, Mexico, 2008
5. Suzuki K, Oka Y, Yamauchi M
Amplification of ATM-dependent checkpoint signals coupled with NHEJ repair.
Ataxia-Telangiectasia Workshop 2008,
April 22-26, Kyoto, Japan, 2008
6. 山下俊一
Nuclear Disasters and Radiation Emergency Medicine; lessons learned from Chernobyl.
第 108 回日本外科学会シンポジウム (長崎), 5 月 15 日, 2008
7. 山下俊一
世界保健機関における内分泌代謝研究.
第 81 回日本内分泌学会学術総会 教育講演 (青森), 5 月 16-18 日, 2008
8. 山下俊一
甲状腺未分化がん分子標的治療の基礎と臨床.
第 81 回日本内分泌学会学術総会 クリニカルアワー8 (青森), 5 月 16-18 日, 2008
9. Rogounovitch T, Saenko V, Mankouskaya S, Demidchik Y, Matsuse M, Mitsutake N, Yamashita S
Molecular and clinico-pathological analysis of pediatric thyroid cancers in Belarus.
ENDO 2008, the 90th Annual Meeting of the Endocrine Society,
June 15-18, San Francisco, USA, 2008
10. Akulevich N, Saenko V, Rogounovitch T, Drozd V, Yamashita S

Thyroid cancer susceptibility: implication of ATM and TP53 genetic variations in papillary thyroid carcinoma of different etiology.

ENDO 2008, the 90th Annual Meeting of the Endocrine Society,

June 15-18, San Francisco, USA, 2008

11. Yamashita S

Necessity of Radiation Emergency Medical Preparedness: Lessons Learned from Japan's Experience.

IAEA Regional Seminar on Nuclear Security, Safety and Safeguards, August 18-22, Hanoi, Vietnam, 2008

12. 山下俊一

放射線の光と影：世界保健機関の戦略。

第22回日本臨床内科医学会 特別講演(長崎), 9月14-15日, 2008

13. Yamashita S

Current and Future Activities : Nagasaki University Global Strategic Center Radiation Health Risk Control.

A Half-Day Symposium, "Human Health Risks to Low-Level Radiation", September 30, East Lansing, USA, 2008

14. 山下俊一

進行甲状腺癌の分子標的治療。

第41回日本甲状腺学会外科学会(東京), 10月16-17日, 2008

15. Mitsutake N, Meng Z, Yamashita S

DHMEQ, a novel NF- κ B inhibitor,

enhances anti-tumor activity of taxanes in anaplastic thyroid cancer cells.

International Congress of Endocrinology 2008,

November 8-12, Rio de Janeiro, Brazil, 2008

16. Suzuki K

Higher-Order Chromatin Structure and Radiation-Induced Genomic Instability.

International Conference on Radiation Biology & Translational Research in Radiation Oncology,

November 10-12, Jaipur, India, 2008

17. 鈴木啓司, 山下俊一

長崎大学グローバル COE シンポジウム

「原爆医療研究の過去・現在・未来」.

日本放射線影響学会第51回大会(北九州), 11月19-21日, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

脂肪由来細胞の分離と細胞生物学的検討

研究分担者：山下 俊一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）

研究協力者：鈴木 啓司（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）

研究要旨

顔貌や体幹などの身体の形態構成の劇的な変貌をもたらす Lipodystrophy の効率よい安全な治療法の確立を目的に、自家脂肪細胞移植の有用性検討の基盤的研究を推進している。今回は、HIV 感染治療患者 1 例と非感染患者 4 例から得られた脂肪幹（前駆）細胞活性の差異の検討を検討した。手術検体から得られた HIV 感染治療患者由来脂肪幹細胞の *in vitro* での培養に成功し、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と細胞増殖に関わる細胞生物学的指標について比較検討を行ったところ、全ての指標において両者に差を見いださなかった。また、いずれの細胞も、脂肪細胞への高度な分化能を保持していることが明らかになった。以上の結果から、HIV 感染治療患者由来の脂肪幹細胞は、非感染者由来脂肪幹細胞と同様の細胞生物学的活性を有していることが確認された。

A. 研究目的

顔貌や体幹などの身体の形態構成の劇的な変貌をもたらす Lipodystrophy の効率よい安全な治療法の確立を目的に施行される自家脂肪細胞移植に向けての基盤的研究として、脂肪幹（前駆）細胞の身体部位の相違による細胞活性の差異の検討を目的として研究を行った。平成 21 年度は、手術標本から得られる HIV 感染患者由来脂肪幹細胞の培養系の確立と、その細胞生物学的活性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

手術検体から得られた脂肪幹細胞懸濁液を、脂肪前駆細胞培地（DMEM/Ham's F-12

(1:1,v/v)、HEPES (pH7.4)、10% FBS) あるいは霊長類 ES 細胞培養培地（ESMF）中に混和し、培養フラスコの中で、37°C、5% CO₂ を含む CO₂ インキュベータ内で培養した。継代培養は、フラスコ底面に付着している脂肪幹細胞を、0.2%トリプシン溶液にさらすことで底面から剥離させ、培養液でけん濁することにより回収し、細胞数を計測した後、一定の細胞数をフラスコに戻すことにより行った。

脂肪細胞への分化には、脂肪前駆細胞培地にビオチン、パントテン酸、インシュリン、デキサメタゾン、IBMX を添加した脂肪細胞分化培地を使用した。まず、脂肪前駆細胞培地で、対数増殖期にある細胞を、90%コンフ

ルエントの状態まで培養した。その後、ほとんどの細胞が分裂を停止している時期を見計らって、培地を脂肪細胞分化培地に変更した。そのまま5日間培養した後に、必要に応じて一度新しい脂肪細胞分化培地に培地交換し、さらに10日まで培養した。

細胞質中に脂肪滴が蓄積しているのを確認してから、培地を除き、PBS緩衝液で2回細胞を洗浄した後に、10%フォルマリン中で細胞を固定した。その後、PBS緩衝液でフォルマリンを除去した後に、60%イソプロパノールを添加し1分間細胞を静置した。最後に、60%イソプロパノール中に溶解したOil Red Oを細胞に加え、脂肪滴の生体染色を行った。脂肪滴の蛍光染色には、BODIPY493/503を用いた。4%フォルマリン中で10分細胞を固定した後、PBS緩衝液でフォルマリンを完全に洗浄除去し、BODIPYを溶解したPBS緩衝液を室温で20分間作用させることにより染色を行った。BODIPYによる染色は、蛍光顕微鏡下で観察することにより確認した。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、手術から得られる検体採取に際して、インフォームド・コンセントのもと、非賢者の不利益にならないように万全の対策を立て、必要があれば第三者機関を設置して、おのおのの手法の妥当性を評価し、また、匿名性を保持し、データ管理に関しても秘匿性を保持した。

C. 研究結果

細胞増殖活性の比較

手術検体から無菌的に採取した脂肪幹細胞は、脂肪前駆細胞培地中で一晩培養し培養フラスコ底面に接着させ、翌日、ESMFに交換して増殖を開始させた。HIV非感染者

由来の脂肪幹細胞と同様に、HIV感染患者から採取した細胞も線維芽細胞様の形態を示し、中胚葉系の幹細胞であることが確認された。その後、ESMF培地中で培養を続けると、活発な増殖細胞が観察されるが、HIV非感染者由来の脂肪幹細胞(4種類)と、HIV感染患者由来脂肪幹細胞(1種類)とで、細胞増殖に明らかな差は認めなかった。つぎに、35mmディッシュに 1×10^4 個の細胞を植え、3日ごとに培養液を交換することにより細胞を飽和状態まで培養し、その後、培養されている全ての細胞を回収することにより細胞飽和密度を検討したが、いずれの場合もほぼ同等の値が得られた。さらに、細胞のclonogenicityをコロニー形成法により比較検討した。培養された脂肪幹細胞を回収し、細胞数を計測した後に、100個の細胞を100mmディッシュに植え、10日間そのまま培養した。その結果、単個細胞由来の細胞集団(コロニー)が形成されるが、その数を実顕微鏡下で計測し、比較を行った。その結果、HIV非感染者由来の脂肪幹細胞でもHIV感染患者由来脂肪幹細胞でも、約30%のコロニー形成率が認められ、以上のいずれの検討でも、両者の細胞生物学的活性に差は認められなかった。

脂肪分化能の比較

脂肪幹細胞の分可能を検討する目的で、培養を開始した一部の細胞を別に22mm x 22mmサイズのカバーグラス上に培養し、脂肪前駆細胞培地中で90%コンフルエントになるまで培養を続けた。約5日目にほぼ細胞の増殖が停止したのを確認した後に、脂肪細胞分化培地に培養液を置換してさらに5日間培養を継続した。7日目までには細胞室中に微細な脂肪滴を持つ細胞が出現して、脂肪細胞への分化が確認される。そこで、培養10日目に再度新しい脂肪分化培地で培養液を

交換してさらに培養を行うと、初期にみられた微細な脂肪滴が徐々に拡大して大きなサイズの脂肪滴に変化していき、脂肪細胞として成熟していくのが観察される。

当初、脂肪細胞分化にともなって形成される脂肪滴は Oil Red-O 染色法により染色していたが、他の様々な蛋白質との多重染色には、Oil Red-O による染色はなじまない。そこで、疎水性蛍光物質である BODIPY を用いて脂肪滴を染色する方法の確立を試みた。その結果、フォルマリン固定した細胞を、最終的に PBS 緩衝液に溶解した BODIPY と反応させることによって、固定細胞中の脂肪滴を高感度で染色する技術を確立した。

この方法を用いて、HIV 非感染者由来の脂肪幹細胞および HIV 感染患者由来脂肪幹細胞を分化させ、両細胞の分化能の違いを比較検討した。その結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞でも、HIV 感染患者由来脂肪幹細胞でも、高度に分化が誘導されていることが明らかになった。分化細胞の出現動態や分化細胞の頻度も両者で全く差はなく、両者は全く同様の細胞分化能を有していることが確認された。

D. 考察

平成 21 年度は、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで細胞生物学的な活性の差異を比較検討することを目的に研究を行った。その結果、手術標本から得られる脂肪幹細胞は、HIV 非感染者由来であっても、HIV 感染患者由来であっても、培養環境中では同様の細胞形態を示し、細胞増殖能力に違いがあるとは予想されなかった。そこで、細胞飽和密度やコロニー形成率等の細胞増殖にかかわる指標を検討し、両者で比較を行った。細胞飽和密度は、細胞間の接触による情報伝達を調べる指標

で、正常細胞に元来備わっている細胞増殖の接触阻止能を評価できる。また、コロニー形成率の検討は、単個細胞が独立して細胞増殖を行う能力を評価できる指標で、多くの正常ヒト細胞では 30% 前後の値が報告されている。検討の結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞でも HIV 感染患者由来脂肪幹細胞でも同様の細胞飽和密度およびコロニー形成率が確認され、以上の結果から、細胞増殖活性において両者に違いはないと結論付けられた。

つぎに、新たに開発した蛍光分子を用いた細胞分化評価法により、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで脂肪細胞への分化活性に差があるかどうか検討した。脂肪幹細胞から脂肪細胞への分化は、細胞増殖にともなう細胞密度の増加と、分化誘導因子との接触の 2 要因が関与する。すでに細胞増殖活性については両者で違いがないことが明らかになったため、全く同じ培養条件で、細胞分化を誘導した。その結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞であっても HIV 感染患者由来脂肪幹細胞であっても、細胞分化が高度に誘導されることが確認され、脂肪幹細胞の分化活性は、両者で全く同じであることが確認された。

以上の結果から、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで、その活性を検討した全ての細胞生物学的指標において差は全く認められなかった。この結果は、Lipodystrophy の原因が、HIV 感染患者の脂肪幹細胞そのものに起因することを完全に否定するものである。すなわち、HIV 感染患者における Lipodystrophy は、脂肪幹細胞もしくは脂肪前駆細胞が、HIV 治療薬を接することによってはじめて引き起こされることを証明するものであり、この事実はまた、Lipodystrophy の治療として、

他部位から採取した脂肪幹細胞を自家移植することの有用性を支持するものでもある。今後は、脂肪幹細胞が HIV 治療薬にさらされることによって、なぜ脂肪分化の抑制が起こるのか、その分子機構を明らかにすることが急務である。

E. 結論

HIV 非感染者由来脂肪幹細胞および HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで細胞増殖活性および細胞分化活性を比較した結果、両者は全く同じ細胞生物学的活性を有することが明らかにされた。

F. 健康危機情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamashita S. Molecular targeted therapy for thyroid cancer in Japan. *Endocr J* 56(8):919-200, 2009
2. Matsuse, M., Yamashita, S., et al., Mutation analysis of RAP1 gene in papillary thyroid carcinomas. *Endocr J* 56(1): 161-164, 2009
3. Limsirichaikul, S., Yamashita, S., et al., A rapid non-radioactive technique for measurement of repair synthesis in primary human fibroblasts by incorporation of ethynyl deoxyuridine (EdU). *Nucleic Acids Res* 37(4): e31, 2009
4. Akulevich, N., Yamashita, S., et al., Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 16(2): 491-503, 2009
5. Drozd, V. M., Yamashita, S., et al., The usual ultrasonographic features of thyroid cancer are less frequent in small tumors that develop after a long latent period after the Chernobyl radiation release accident. *Thyroid* 19(7): 725-734, 2009
6. Matsuse, M., Yamashita, S., et al., Lack of GNAQ hotspot mutation in papillary thyroid carcinomas. *Thyroid* 19(8): 921-922, 2009
7. Suzuki K, Kashino G, Kodama S, Watanabe M: Long-term persistence of X-ray-induced genomic instability in quiescent normal human diploid cells. *Mutat Res* 671(1-2): 33-39, 2009.
8. Suzuki K, Kodama S, Watanabe M: Role of Ku80-dependent end-joining in delayed genomic instability in mammalian cells surviving ionizing radiation. *Mutat Res* 683(1-2): 29-34, 2009.
9. Ariyoshi K, Suzuki K, Goto M, Oshimura, Ishizaki K, Watanabe M, Kodama S: Introduction of a normal human chromosome 8 corrects abnormal phenotype of Werner syndrome cells immortalized by expressing an hTERT gene. *J Radiat Res* 50(3): 253-259, 2009.
10. Kobayashi Y, Funayama T, Hamada N, Sakashita T, Konishi T, Imaseki H, Yasuda K, Hatashita M, Takagi K, Hatori S, Suzuki K, Yamauchi M, Yamashita S, Tomita M, Maeda M, Kobayashi K, Usami N, Wu L: Microbeam irradiation facilities for

radiobiology in Japan and China. J Radiat Res Supple A: A29-A47, 2009.

11. Naruke Y, Nakashima M, Suzuki K, Kondo H, Hayashi T, Soda M, Sekine I: Genomic instability in the epidermis induced by atomic bomb (A-bomb) radiation: a long-lasting health effect in A-bomb survivors. Cancer 115(16):3782-3790, 2009.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 年度 分担研究報告書

脂肪由来細胞の分離と細胞生物学的検討

研究分担者 山下 俊一

（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻分子診断学分野 教授）

研究協力者 鈴木 啓司

（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻分子診断学分野 准教授）

研究要旨

平成 22 年度は、手術標本から得られる HIV 感染患者由来脂肪幹細胞を用いた HAART 薬剤による細胞障害惹起の分子機序の解明を目指した。手術検体から得られた脂肪組織由来幹細胞懸濁液を、霊長類 ES 細胞培養培地 (ESMF) に混和し、タイプ I コラーゲンをコートした培養フラスコに播種し、37°C、5%CO₂ の条件で培養した。細胞の継代培養は、接着増殖している細胞を 0.2%トリプシン処理により浮遊させ、細胞数を計測した後、一部の細胞を再び培養フラスコに播種して行った。Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が治療薬に曝露されることによって起こる特異な現象である可能性を、最近臨床での使用例の増加が顕著な、プロテアーゼ阻害剤 (PI) の 1 つである ATV を用いて検証した。脂肪幹細胞から脂肪細胞への分化は、細胞増殖期のみならず ATV が存在した群では、細胞増殖への作用も含め、何ら影響は認められなかった。一方、全ての時期で ATV が存在した場合には、脂肪細胞分化が顕著に抑制されることが明らかになり、ATV により確認された脂肪細胞分化の抑制効果は、細胞密度が飽和に達し、分化誘導因子が作用する以降のプロセスで発現することがわかった。

この際、ATV を作用させた細胞に特徴的な現象として、細胞の断片が多数観察されたため、アポトーシスによる細胞死が誘導されていることが考えられた。そこで、アポトーシスにともなう DNA の断片化を DNA 損傷マーカーを応用して確認したところ、ATV の濃度依存的なアポトーシス陽性細胞の増加が確認され、ATV による脂肪細胞分化抑制は、細胞分化プロセスに同期した細胞死誘導の増強によるものであることが証明された。

ATV が蛋白質分解を阻害する活性を持っていることを考え合わせると、ATV 存在下で、小胞体での異常折りたたみ蛋白質の処理が進まなくなり、ER ストレスが増強されて細胞死がより誘導されるようになったと考えることができる。そこで、ER ストレスの増強を、ER ストレス経路の最下流の因子の 1 つである CHOP の発現を検討することにより調べた。その結果、ATV 処理によって CHOP の発現が亢進する細胞が増加し、ATV によるアポトーシス誘導の増強は、ER ストレスの増強によるものであることが証明された。ATV が、脂肪細胞分化プロセスの中で、細胞増殖にともなう細胞密度の増加ではなく、分化誘導因子と接触の段階でアポトーシスによる細胞死を誘導していることが明らかになった。この効果には、HIV 感染者由来脂肪幹細胞と HIV 非感染患者由来脂肪幹細胞とで全く差は認められなかったことから、HIV 感染に特有のものではなく、ATV による治療に直結した現象であることが確認された。

Lipodystrophy の軽減という観点では、ATV による脂肪細胞分化過程でのアポトーシス誘導の分子機序の解明が極めて重要である。すでに、ER ストレスの惹起にかかわる多くの分子が同定されているが、これら因子の解析結果は、いずれもが ER ストレスの増強を示す結果であ

ることから、ATVにより、いわゆる Unfolded protein response (UPR)が誘導されたことが明らかになった。UPRは、糖尿病や腎不全、脳変性疾患でも注目されている生体反応で、HIV 感染患者の治療にともなう Lipodystrophy 以外の副作用の理解の一助にもなると期待される。

以上の結果は、HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が HIV 治療薬を接することによってはじめて引き起こされる細胞死に起因することを証明するものであり、HIV への感染が、このいずれの過程にも影響を及ぼさないことを証明したのものである。この事実は、Lipodystrophy の治療において、治療薬と同時に ER ストレスの阻害剤を併用することで Lipodystrophy を改善できることを示した結果であり、今後の HIV 関連 Lipodystrophy 克服に向けた、新たな治療戦略を提案するものである。

A. 研究目的

顔貌や体幹などの身体の形態構成の劇的な変貌をもたらす Lipodystrophy の効率よい安全な治療法の確立を目的に施行される自家脂肪細胞移植に向けての基盤的研究を推進し、HIV 感染患者および HIV 非感染患者由来の脂肪組織由来幹細胞の細胞活性の差異の検討を目的として研究を行った。平成22年度は、手術標本から得られる HIV 感染患者由来脂肪幹細胞を用いた HAAT 薬剤による細胞障害惹起の分子機序の解明を目指した。

B. 研究方法

手術検体から得られた脂肪組織由来幹細胞懸濁液を、霊長類 ES 細胞培養培地 (ESMF) に混和し、タイプ I コラーゲンをコートした培養フラスコに播種し、37℃、5% CO₂ の条件で培養した。細胞の継代培養は、接着増殖している細胞を 0.2% トリプシン処理により浮遊させ、細胞数を計測した後、一部の細胞を再び培養フラスコに播種して行った。

Atazanavir (ATV) は、エタノールにて溶解後、-30℃の冷凍庫で保存し、使用時には、エタノールで飽和したマイクロピペットを用いて培養液に添加し、よく混和した後に細胞に作用させた。

脂肪細胞への分化には、脂肪前駆細胞培地にビオチン、パントテン酸、インシュリン、デキサメタゾン、IBMX を添加した脂肪細胞分化培地を使用した。まず、対数増殖期にある脂肪幹細胞を ESMF 中で 90% 以上のコンフルエントの状態まで培養した。その後、培地

を脂肪細胞分化培地に変更した。そのまま 5 日間培養した後に、必要に応じてもう一度新しい脂肪細胞分化培地に培地交換し、さらに 10 日まで培養した。脂肪細胞への分化は、細胞質への脂肪滴の蓄積により評価した。

脂肪滴の蛍光検出には、BODIPY493/503 を用いた。4% フォルマリン中で 10 分細胞を固定した後、BODIPY を溶解した PBS 緩衝液を室温で 20 分間作用させることにより染色を行った。BODIPY による染色は、蛍光顕微鏡下で観察し、デジタル画像を取得して解析を行った。

アポトーシスや ER ストレスの誘導は、蛍光免疫染色法により解析した。アポトーシスの誘導にともなう DNA の断片化は、抗リン酸化ヒストン H2AX 抗体を用いて、また、ER ストレスにともなう CHOP の発現誘導細胞は抗 CHOP 抗体を用いて検出した。これら一次抗体は、Alexa488 もしくは Alexa594 で標識した二次抗体を用いて可視化した。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、手術から得られる検体採取に際して、インフォームド・コンセントのもと、被験者の不利益にならないように万全の対策を立て、必要があれば第三者機関を設置して、おのおのの手法の妥当性を評価し、また、匿名性を保持し、データ管理に関しても秘匿性を保持した。

C. 研究結果

Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が治療薬に曝露されることによって起こる特異な現象である可能性を、最近臨床での使用

例の増加が顕著な、プロテアーゼ阻害剤 (PI) の 1 つである ATV を用いて検証した。脂肪幹細胞から脂肪細胞への分化は、細胞増殖にともなう細胞密度の増加と、分化誘導因子との接触の 2 要因が関与するため、細胞増殖期のみならず、ATV を作用させる群と、全ての時期に ATV が存在する群の 2 つの処理条件を比較した。その結果、細胞増殖期のみならず、ATV が存在した群では、細胞増殖への作用も含め、何ら影響は認められなかった。一方、全ての時期で ATV が存在した場合には、脂肪細胞分化が顕著に抑制されることが明らかになり、ATV により確認された脂肪細胞分化の抑制効果は、細胞密度が飽和に達し、分化誘導因子が作用する以降のプロセスで発現することがわかった。

この際、ATV を作用させた細胞に特徴的な現象として、細胞の断片が多数観察されたため、アポトーシスによる細胞死が誘導されていることが考えられた。そこで、アポトーシスにともなう DNA の断片化を DNA 損傷マーカーを応用して確認したところ、ATV の濃度依存的なアポトーシス陽性細胞の増加が確認され、ATV による脂肪細胞分化抑制は、細胞分化プロセスに同期した細胞死誘導の増強によるものであることが証明された。

もともと、脂肪分化では小胞体に脂肪が蓄積されるため、ER ストレスを弱いながら惹起することが知られている。ATV が蛋白質分解を阻害する活性を持っていることを考え合わせると、ATV 存在下で、小胞体での異常折りたたみ蛋白質の処理が進まなくなり、ER ストレスが増強されて細胞死がより誘導されるようになったと考えることができる。そこで、ER ストレスの増強を、ER ストレス経路の最下流の因子の 1 つである CHOP の発現を検討することにより調べた。その結果、予想どおり、ATV 処理によって CHOP の発現が亢進する細胞が増加し、ATV によるアポトーシス誘導の増強は、ER ストレスの増強によるものであることが証明された。

D. 考察

これまでの研究で、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで脂肪細胞への分化活性に差がないことが確認された。そこで、Lipodystrophy は、治療薬に曝されたときに起こる特異な現象であることが明らかになった。そこで、ATV をモデル薬剤として、*in vitro* の Lipodystrophy モデル実験系を確立した。その結果、ATV が、脂肪細胞分化プロセスの中で、細胞増殖にともなう細胞密度の増加ではなく、分化誘導因子と接触の段階でアポトーシスによる細胞死を誘導していることが明らかになった。この効果には、HIV 感染者由来脂肪幹細胞と HIV 非感染患者由来脂肪幹細胞とで全く差は認められなかったことから、HIV 感染に特有のものではなく、ATV による治療に直結した現象であることが確認された。

Lipodystrophy の軽減という観点では、ATV による脂肪細胞分化過程でのアポトーシス誘導の分子機序の解明が極めて重要である。本研究では、もともと脂肪分化の過程で誘導される微弱な ER ストレスが、ATV の作用によって増強されるという仮説を提唱し、これを証明した。すでに、ER ストレスの惹起にかかわる多くの分子が同定されているが、これら因子の解析結果は、いずれもが ER ストレスの増強を示す結果であることから、ATV により、いわゆる Unfolded protein response (UPR) が誘導されたことが明らかになった。UPR は、糖尿病や腎不全、脳変性疾患でも注目されている生体反応で、HIV 感染患者の治療にともなう Lipodystrophy 以外の副作用の理解の一助にもなると期待される。

以上の結果は、HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が HIV 治療薬を接することによってはじめて引き起こされる細胞死に起因することを証明するものであり、HIV への感染が、このいずれの過程にも影響を及ぼさないことを証明したものである。この事実は、Lipodystrophy の治療において、治療薬と同時に ER ストレスの阻害剤を併用することで Lipodystrophy を改善できることを示した結果であり、今後

の HIV 関連 Lipodystrophy 克服に向けた、新たな治療戦略を提案するものである。

E. 結論

HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞の分化過程に起こる ER ストレスの増強に起因するアポトーシスによる細胞死に起因することを明らかにし、HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けた新たな治療戦略の分子基盤を提供することができた。

F. 健康危機情報

特記事項なし

G. 研究発表

山下俊一

1. 論文発表

- 1) Saenko V, Yamashita S: Chernobyl thyroid cancer 25 years after: in search of a molecular radiation signature. *Hot Thyroidology* (www.hotthyroidology.com), HT 8/10, 2010
- 2) Ujifuku K, Mitsutake N, Takakura S, Matsuse M, Saenko V, Suzuki K, Hayashi K, Matsuo T, Kamada K, Nagata I, Yamashita S: miR-195, miR-455-3p and miR-10a(*) are implicated in acquired temozolomide resistance in glioblastoma multiforme cells. *Cancer Lett.* 296: 241-248, 2010
- 3) Suzuki K, Nakashima M, Yamashita S: Dynamics of ionizing radiation-induced DNA damage response in reconstituted three-dimensional human skin tissue. *Radiat Res.* 174: 415-423, 2010
- 4) Suzuki K, Yamauchi M, Oka Y, Suzuki M, Yamashita S: A novel and simple micro-irradiation technique for creating localized DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res.* 38: e129, 2010
- 5) Takahashi M, Saenko VA, Rogounovitch TI, Kawaguchi T, Drozd VM, Takigawa-Imamura H, Akulevich NM, Ratanajaraya C, Mitsutake N, Takamura N, Danilova LI, Lushchik ML, Demidchik YE, Heath S, Yamada R, Lathrop M, Matsuda F, Yamashita S: The *FOXE1* locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Hum Mol Genet.* 19: 2516-2523, 2010
- 6) Kumagai A, Ohtsuru A, Usa T, Mitsutake N, Yamashita S: Molecular targeting therapy with external radiation for intractable and poor-prognosis thyroid carcinoma. *Endocrine Journal.* 57:S455-456, 2010
- 7) Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S: Mesenchymal stem cell therapy for cutaneous radiation syndrome. *Health Phys.* 98: 858-862, 2010
- 8) Ishikawa A, Yamauchi M, Suzuki K, Yamashita S: Image-based quantitative determination of DNA damage signal reveals a threshold for G2 checkpoint activation in response to ionizing radiation. *Genome Integr.* 1: 10, 2010
- 10) Suzuki K, Takahashi M, Oka Y, Yamauchi M, Suzuki M, Yamashita S: Requirement of ATM-dependent pathway for the repair of a subset of DNA double strand breaks created by restriction endonucleases. *Genome Integr.* 1: 4, 2010
- 11) Nakazawa Y, Yamashita S, Lehmann AR, Ogi T: A semi-automated non-radioactive system for measuring recovery of RNA synthesis and unscheduled DNA synthesis using ethynyluracil derivatives. *DNA Repair (Amst).* 9: 506-516, 2010
- 12) Inoue N, Isomoto H, Matsushima K, Hayashi T, Kunizaki M, Hidaka S, Machida H, Mitsutake N, Nanashima A,

- Takeshima F, Nakayama T, Ohtsuru A, Nakashima M, Nagayasu T, Yamashita S, Nakao K, Kohno S: Down-regulation of microRNA 10a expression in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Oncology Letters*. 1:527-531, 2010
- 1 3) Sekitani Y, Hayashida N, Karevskaya IV, Vasilitsova OA, Kozlovsky A, Omiya M, Yamashita S, Takamura N: Evaluation of 137CS body burden in inhabitants of Bryansk oblast, Russian Federation, where a high incidence of thyroid cancer was observed after the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant. *Radiat Prot Dosimetry*. 141: 36-42, 2010
- 1 4) Ogi T, Limsirichaikul S, Overmeer RM, Volker M, Takenaka K, Cloney R, Nakazawa Y, Niimi A, Miki Y, Jaspers NG, Mullenders LH, Yamashita S, Fousteri MI, Lehmann AR: Three DNA Polymerases, Recruited by Different Mechanisms, Carry Out NER Repair Synthesis in Human Cells. *Mol Cell*. 37: 714-727, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1.特許取得

無し

2.実用新案登録

無し

3.その他

無し

HIV 関連リポディストロフィーにおける顔面および体幹部皮下脂肪 の CT 解析に関する研究

分担研究者： 上谷雅孝

長崎大学医歯薬学総合研究科・展開医療科学講座 放射線診断治療学 教授

研究要旨

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を行った。HIV 感染者 4 名および健常ボランティア 1 名において、全身皮下脂肪のカラー表示および立体表示を行い、皮下脂肪の分布を視覚的に表示することができた。

A. 研究目的

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を行う。今年度は解析を行う準備段階として、適切な撮像法および 3D-CT 画像の解析手法を検討する。

B. 研究方法

対象は HIV 感染者 4 名および健常ボランティア 1 名。CT は長崎大学医学部歯学部附属病院に既設の 64 列ヘリカル CT（Toshiba 社製 Aquilion64）を使用した。撮影条件は頭～顔面～頸部までは 120kV, 300mAs, 0.5mm スライス厚で約 1200 スライス、胸部～手～足は 120kV, 350mAs, 1mm スライス厚で約 1200 スライスとした。CT データは既設ワークステーション（ザイオソフト社製ザイオステーション）を転

送し、以下の解析を試みた。

- 1) CT 値による皮下脂肪の抽出
- 2) 皮下脂肪のカラー表示
- 3) 皮下脂肪の計測（厚さ、面積、体積

（倫理面への配慮）

本研究は長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号 08070297）。対象者にはあらかじめ本研究の目的と検査の方法を十分に説明し、検査、診察、出版・公表に関する同意を得た。検査にかかる実費は研究費で負担した。

C. 研究結果

全ての症例において、閾値となる CT を設定することにより皮下脂肪をカラー表示することが可能であった。さらにその画像を立体表示することで、皮下脂肪の分布を視覚的に表示することができた（図 1）。さらに脂肪以外の組織（皮膚、骨など）の透

過度を変化させることで、これらを重ね合わせた画像を作成することが可能で、皮下脂肪と周囲組織との関連を評価することができた。

D. 考察

リポディストロフィーの治療法の確立には、皮下脂肪の体積や分布を正確に評価することが必要である。二次元の CT 断面を用いた評価の報告 (Honda M, et al. Intern Med 2007;46:359-62.) があるが、スライス位置、スライス角度、測定部位による測定のばらつきが生じる可能性が高く、正確な評価には適さない。近年普及しているマルチスライスヘリカル CT は薄いスライスですきまのないデータ (volumetric data) が得られ、再現性が高い測定を行うことができる。最近開発された 64 列ヘリカル CT はより高速で広範囲の撮像が可能だけでなく、X 線被曝も低減が図られている。

64 列ヘリカル CT で得られたデータから、全身の皮下脂肪の分布をカラー表示し、視覚的に評価することが可能であった。ただし、閾値設定を変化させることによって、脂肪として表示される領域が変化することに注意しなければならない。皮下脂肪に線維化や炎症などが加わると皮下脂肪の CT 値は変化する。このような変化を捉えるには複数の閾値を用いた解析が必要と考えられた。

E. 結論

64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ解析により、全身皮下脂肪のカラー表示および立体表示を行い、皮下脂肪の分布を視覚的に表示することができた。

F. 健康危機情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Isomoto I, Wada T, Abe K, Uetani M: Diagnostic utility of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diabetic mastopathy. Clin Imaging 33: 146-149, 2009
2. Sueyoshi E, Matsuoka Y, Sakamoto I, Uetani M: CT and clinical features of hemorrhage extending along the pulmonary artery due to ruptured aortic dissection. Eur Radiol 19 : 1166-74, 2009
3. Mizowaki T, Sueyoshi E, Sakamoto I, Uetani M: Expansion rate of nonaneurysmatic abdominal aorta: over 10 years of follow-up CT studies. Comput Med Imaging Graph 33: 17-22, 2009
4. Kumagai K, Motomura K, Egashira M, Tomita M, Suzuki M, Uetani M, Shindo H: A case of progressive osseous heteroplasia: a first case in Japan. Skeletal Radiol 37: 563-567, 2008
5. 江口勝美, 上谷雅孝: 【整形外科疾患に対する最新画像診断】 MRI MRI を用いた関節リウマチの早期診断予測. 関節外科 27 10 月増刊: 82-95, 2008
6. 江口勝美, 宇佐俊郎, 上谷雅孝: 【一般医に必要なリウマチ診療の知識】 関節リウマチの診療のために 画像診断. 総合臨床 57: 2846-2854, 2008
7. 上谷雅孝: 【MRI エッセンシャル おさえておきたいポイント】 スポーツ外傷と障

害. 日本医師会雑誌 137: 1003-1008, 2008

8. 上谷雅孝: 【脊椎脊髄疾患と鑑別を要する末梢神経疾患】画像診断による脊椎脊髄疾患と末梢神経障害の鑑別診断 特に末梢神経障害のMRIを中心に. 脊椎脊髄ジャーナル 21: 935-941, 2008

9. 上谷雅孝, 川上純, 玉井慎美, 江口勝美: 【骨関節画像診断の最前線 MSKを識る】骨関節組織のMR imaging 関節炎のMRI 関節リウマチを中心に. 臨床画像 24: 1336-1345, 2008

2. 学会発表

1. Mami Tamai, Masataka Uetani, et al: Bone changes detected by plain MRI of both wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis accurately reflect the bone changes in Gd-enhanced MRI. Annual European Congress of Rheumatology 2008, Paris

2. 上谷雅孝: 早期リウマチ 早期RAのMRI診断. 日本関節病学会誌 27: 267, 2008

3. 高尾正一郎, 山口哲治, 上谷雅孝, 米倉暁彦, 弦本敏行, 進藤裕幸: MR microscopyによる膝蓋骨関節軟骨の評価. Rad Med 26 Suppl I: 82, 2008

4. 玉井慎美, 上谷雅孝, 川上純, 川尻真也, 岩本直樹, 藤川敬太, 荒牧俊幸, 一瀬邦弘, 蒲池誠, 有馬和彦, 中村英樹, 井田弘明, 折口智樹, 青柳潔, 江口勝美: 早期関節リウマチでの両手撮像MRI. 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 52回・17回: 249, 2008

5. 川上純, 玉井慎美, 岩本直樹, 川尻真也, 藤川敬太, 荒牧俊幸, 一瀬邦広, 蒲池誠, 中

村英樹, 井田弘明, 折口智樹, 上谷雅孝, 青柳潔, 江口勝美: 関節リウマチの予後改善のために 抗CCP抗体と関節リウマチの診断・病態. 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 52回・17回: 202, 2008

6. 江口勝美, 上谷雅孝, 川上純, 玉井慎美: リウマチ診療における画像診断学 MRI画像による関節リウマチの早期診断予測と関節破壊進行予測. 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 52回・17回: 163, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

HIV 関連リポディストロフィーにおける顔面および体幹部皮下脂肪の CT 解析に関する研究

研究分担者：上谷雅孝

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線診断治療学教授

研究要旨

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を 4 名の患者に行った。このうち 1 名は、自家脂肪組織由来幹細胞移植術が行われ、顔面 2 部位における皮下脂肪の体積測定を行い、視覚的および容積量による経時的評価を行うことができた

A. 研究目的

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を行う。今年度は新たな解析用ワークステーションを導入し、皮下脂肪の自動抽出と容積測定解析を行い、経時的評価を行った。

B. 研究方法

対象は HIV 感染者 4 名。CT は長崎大学医学部歯学部附属病院に既設の 64 列ヘリカル CT (Toshiba 社製 Aquilion64) を使用した。撮影条件は頭～顔面～頸部までは 120kV, 300mAs, 0.5mm スライス厚で約 1200 スライス、胸部～手～足は 120kV, 350mAs, 1mm スライス厚で約 1200 スライスとした。CT データは既設ワークステーション（ザイオンフト社製ザイオステーション）および新規ワークステーション（富士フィルムメディカル社

製 Vincent) に転送し、以下の解析を試みた。

- 1) CT 値による皮下脂肪の抽出
 - 2) 皮下脂肪のカラー表示
 - 3) 皮下脂肪の計測（厚さ、面積、体積）
- 2 名では富士フィルムメディカル社製 Vincent では顔面脂肪の自動抽出と容積測定を行い、顔面脂肪の経時的評価を行った。このうち 1 名は自家脂肪組織由来幹細胞移植術後で、術前、術後 1 ヶ月と 3 ヶ月の計測を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号 08070297）。対象者にはあらかじめ本研究の目的と検査の方法を十分に説明し、検査、診察、出版・公表に関する同意を得た。検査にかかる実費は研究費で負担した。

C. 研究結果

C. 研究結果

全ての症例において、閾値となる CT 値を設定することにより皮下脂肪をカラー表示することが可能であった。さらにその画像を立体表示することで、皮下脂肪の分布を視覚的に表示することができた。さらに脂肪以外の組織（皮膚、骨など）の透過度を変化させることで、これらを重ね合わせた画像を作成することが可能で、皮下脂肪と周囲組織との関連を評価することができた。

自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の患者 1 名では顔面の皮下脂肪の評価では頬部と側頭部の皮下脂肪に分けて皮下脂肪容積の測定を行い、術前 3.82ml（頬部 0.075ml、側頭部 3.74ml）、術後 1 ヶ月 3.08ml（頬部 0.323ml、側頭部 2.76ml）、術後 3 ヶ月 3.18ml（頬部 0.359ml、側頭部 2.82ml）であった。

D. 考察

リポディストロフィーの治療法の確立には、皮下脂肪の体積や分布を正確に評価することが必要である。二次元の CT 断面を用いた評価の報告（Honda M, et al. Intern Med 2007;46:359-62.）があるが、スライス位置、スライス角度、測定部位による測定のばらつきが生じる可能性が高く、正確な評価には適さない。近年普及しているマルチスライスヘリカル CT は薄いスライスですきまのないデータ（volumetric data）が得られ、再現性が高い測定を行うことができる。最近開発された 64 列ヘリカル CT はより高速で広範囲の撮像が可能だけでなく、X 線被曝も低減が図られている。

今回は前年度に引き続き 64 列ヘリカル CT で得られたデータによる皮下脂肪解析を 4 名に行った。新たなワークステーション使用により、簡便な解析が可能になったが、ま

だ症例が少なく、再現性の検討や閾値の適切な設定の検討が不足している。自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の解析では、頬部の皮下脂肪にわずかな増加が認められたが、これが有意なものかどうかについては今度の検討が必要である。

E. 結論

64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ解析により、皮下脂肪を自動抽出し、容積測定を行った。術後の経時的変化を評価するには再現性の検討が必要である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1) Fujikawa K, Kawakami A, Tamai M et al: High serum cartilage oligomeric matrix protein determines the subset of patients with early-stage rheumatoid arthritis with high serum C-reactive protein, matrix metalloproteinase-3, and MRI-proven bone erosion. J Rheumatol 36: 1126-1129, 2009

2) Tamai M, Kawakami A, Uetani M et al: A prediction rule for disease outcome in patients with undifferentiated arthritis using magnetic resonance imaging of the wrists and finger joints and serologic autoantibodies. Arthritis Rheum 61: 772-778, 2009

3) 上谷雅孝, 他: 【早期リウマチ】 早期関節リウマチの MRI 診断. 整形・災害外科 52: 1169-1177, 2009

4) 上谷雅孝: 目でみるシリーズ MRI による関節リウマチの評価 Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology 3: 120-125, 2009

2. 学会発表

1) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: Early Therapeutic Intervention Toward Patients in Undifferentiated Arthritis with MEI-Proven Bone Changes and Autoantibodies by Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARDS): Nagasaki Early Arthritis Intervention Trial, EULAR 2009, Copenhagen, Denmark, 2009

2) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: A Prediction Rule for Disease Outcome in Patients with Undifferentiated Arthritis Using MRI of Wrists and Finger Joints and Serologic Autoantibodies, EULAR 2009, Copenhagen, Denmark, 2009

3) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: A Prediction Rule for Disease Outcome in Patients with Undifferentiated Arthritis by MRI of the Wrists and Finger Joints and Serologic Autoantibodies: Second Report Regarding to the Utility of Plain MRI. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 2009.

4) 上谷雅孝:教育講演 関節リウマチのMRI. 日本医学放射線学会学術集会, 2009

5) 玉井慎美, 川上純, 上谷雅孝, 他: シンポジウム 画像診断 2 早期関節リウマチにおける非造影手関節 MRI の有用性の検討. 日本リウマチ学会総会・学術集会, 2009

6) 玉井慎美, 川上純, 上谷雅孝, 他: 診断未確定関節炎の評価. 日本リウマチ学会総会・学術集会, 2009

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得