

P2-28

Kruppel-like factor 5 is involved in miscarriage and decidualization

(産科婦人科)

○小島 淳哉、久保田海雄、西 洋孝

※抄録の掲載を辞退する。

P2-29

iPS 細胞を利用した肝細胞分化の簡易化と機能評価

(大学院修士課程 2 年分子病理学)

○作 紀昂

(分子病理学)

黒田 雅彦

(東京都健康長寿医療研究センター)

豊田 雅士

(国立成育医療研究センター：細胞医療研究部)

梅澤 明弘

創薬研究の薬剤評価系として、肝臓での代謝を予測することは非常に重要である。その為、実験動物、ヒト初代培養肝細胞及び不死化肝細胞などを利用した研究が確立されてきた。しかし、それぞれ種差、検体ごとのロット差、使用細胞株の少なさなどの問題点が指摘されている。そこで、本研究では iPS 細胞を利用し、in vitro で肝細胞に分化させることで、新たな安定した肝代謝を反映した薬剤評価系を確立することを目指した。この背景としては、1) これまで報告された肝細胞分化誘導法を行っても作業工程が複雑であり、再現よく安定した肝細胞が得ることができない、2) iPS 細胞分化誘導肝細胞は、その成熟度が低く、機能も十分とはいえないといった課題があるためである。そこで課題解決のため、iPS 細胞由来肝細胞を一定の機能を有したまま増殖させ、安定的に大量の肝細胞を手に入れる方法を確立し、さらに機能評価を試みた。具体的には、iPS 細胞の凝集体である胚葉体を経て接着培養を行う簡易な方法で分化誘導し、肝細胞を作製した。作製した肝細胞には増殖能が高いとされている肝前駆細胞が含まれていると考え、その高い増殖能に注目して適切な培養条件のもとで継代を行うことで肝細胞の

増殖を試みた。さらに増えた肝細胞の評価として、肝細胞で発現する AFP、ALB を免疫化学染色において確認した。また薬剤代謝機能評価を行うために薬剤誘導による薬剤代謝酵素の遺伝子発現誘導を定量的 RT-PCR で解析した。その結果、不死化因子を入れていないにも関わらず長期的に増殖する肝細胞が得られた。また得られた肝細胞は、不死化肝細胞 HepaRG と比較して、2.7 倍の CYP3A4 活性を有していた。これにより、本細胞が安定的な薬剤評価を行うための機能性の高い肝細胞として利用できることが示唆された。

P2-30

骨髓異形成症候群患者由来細胞における硫化ヒ素の分化誘導作用

(東京薬科大学)

○田中 祥子、正木 寛、蜂谷 真弘

恩田 健二、杉山健太郎、平野 俊彦

(中国中医科学院)

胡 曉梅

【背景・目的】 骨髓異形成症候群 (MDS) は、骨髓中の造血幹細胞異常により生じる無効造血を呈する疾患群であり、高率で急性骨髄性白血病 (AML) を発症する。急性骨髄性白血病に適応のある三酸化二ヒ素 (As_2O_3) は融合遺伝子である PML-RAR α を分解することによって分化誘導を促進するという報告がある。PML タンパクは核内で Nuclear Body を形成し、分化調節に関与している可能性が考えられる。中国では、経口薬として硫化ヒ素 (As_2S_2) による MDS 治療が試みられている。我々は As_2S_2 が MDS 患者由来の F-36P 細胞および AML 患者由来の HL-60 細胞の増殖を抑制することを確認している。本研究では、 As_2S_2 が分化誘導に及ぼす影響について検討することを目的とした。

【方法】 MDS/AML 細胞株 F-36P cell における PML 分解酵素である RNF4 発現を siRNA によりノックダウンし、造血幹細胞分化マーカーである CD34、CD38、赤芽球系分化マーカーである CD235a の発現をフローサイトメトリー法により測定した。網膜芽細胞腫タンパク質 (Rb)、DNA メチル化転移酵素 (DNMT) および転写因子である GATA1 あるいは GATA2 タンパク発現をウエスタンブロット法で検

出した。

【結果・考察】 F-36P 細胞における幹細胞集団である CD34⁺ CD38⁻ 細胞では、As₂S₂ 処理により CD235a タンパク質の発現量が増加した。siRNA により RNF4 タンパクをノックダウンし、As₂S₂ による PML 分解が抑制されると、有意に CD235a タンパク質発現量が減少した。一方、DNMT1、Rb および GATA2 タンパク質発現量の減少が抑制された。以上の結果から、As₂S₂ が F-36P 細胞において PML タンパクを分解することにより DNMT1 あるいは Rb タンパクの発現を抑制し、赤芽球細胞へ分化誘導する可能性が示唆された。

P2-31

在宅自立高齢者の最大歩幅と介護・死亡との関連：北御牧コホート研究

(専攻生：公衆衛生学)

○岡田 真平

(公衆衛生学)

福島 教照、小田切優子、高宮 朋子

菊池 宏幸、井上 茂

【背景】 高齢期に下肢機能を維持することは健康寿命延伸の観点から重要である。高齢者の下肢機能の評価法は、立ち座りや歩行等が簡便な方法として用いられてきたが、「最大歩幅」はさらに省スペースで特殊な器具を用いず短時間に計測可能であり、実践的な評価法と考えられる。しかし、最大歩幅と介護認定および生命予後との関連は十分検討されていない。

【目的】 在宅自立高齢者の最大歩幅と、その後の介護認定、死亡との関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】 長野県北御牧村在住者に 2000 年に実施した最大歩幅の計測に参加した 80 歳未満の高齢者のうち、ベースライン調査および 2013 年 8 月末までの介護認定状況と生命予後が追跡できた 541 名 (男 203 名、女 338 名) を対象とした 13 年間のコホート研究を実施した。下肢長で補正した最大歩幅を男女別に三分位に分け、介護認定、死亡をそれぞれ従属変数とし、Cox 比例ハザードモデルにより、最大歩幅の上位群に対する中位、下位のハザード比を 2 つのモデル (性、年齢で調整したモデル 1 と、

体格、運動習慣、合併症を変数に加えて調整したモデル 2) で示した。

【結果】 ベースライン時の対象者の平均年齢は 72.1±4.0 歳で、追跡期間内に 246 人が介護認定を受け (うち要介護 3 以上は 137 人)、190 人が死亡した。歩幅上位群に対するハザード比 [95%CI] は、介護認定では下位 (モデル 1: 2.28 [1.64-3.18]、モデル 2: 2.26 [1.61-3.18]) で、死亡では中位 (モデル 1: 1.69 [1.13-2.54]、モデル 2: 1.75 [1.16-2.65]) と下位 (モデル 1: 2.34 [1.61-3.54]、モデル 2: 2.53 [1.69-3.79]) で、有意に介護認定および死亡率が高かった。要介護 3 以上をアウトカムとした感度分析でも同様の結果を示した。

【結語】 簡便に実施可能な最大歩幅は、高齢者における介護認定および死亡と関連する有用な指標であることが示され、介護予防事業における実践的な予後予測因子として重要と考えられた。

P2-32

Comparison of the duration and type of moderate to vigorous physical activity between the “young-old” and “old-old” in Japan

(社会人大学院博士課程 2 年公衆衛生学)

○町田 征己

(公衆衛生学)

高宮 朋子、菊池 宏幸、福島 教照

小田切優子、井上 茂

(大学院博士課程 2 年公衆衛生学)

天笠 志保

Background: Most physical activity (PA) guidelines for health promotion recommend moderate to vigorous PA (MVPA) lasting at least 10 minutes (long-bout MVPA). However, recent studies have shown the beneficial effects of intermittent MVPA lasting <10 minutes (short-bout MVPA). We previously reported that the total duration of MVPA is about 45 min/day, and the proportion of long-bout MVPA is only about 27% of the total in older adults. On the other hand, there are few reports to date on the association between age and MVPA patterns. We aimed to compare the patterns of MVPA between young-old and old-old people using accelerometers.

Methods: This was a cross-sectional study. The total