

研究種目：若手研究 (B)  
研究期間：2007 年度～2008 年度  
課題番号：19791315  
研究課題名 (和文) 蛍光ラットを用いた脂肪移植の実験  
研究課題名 (英文) In vivo bioluminescence imaging of fat grafts using luciferase transgenic rats  
研究代表者 須永 中 (SUNAGA ATARU)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：00406117

## 研究成果の概要：

蛍の発光遺伝子を組み込んだ遺伝子組み替えラットの脂肪組織を、通常のラットに移植した。術後 in vivo imaging system を用いて移植組織から発せられる luminescent signal を経時的に観察・定量することにより、生体内における移植組織の viability を測定した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	0	2,200,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：脂肪移植、luciferase

## 1. 研究開始当初の背景

近年、脂肪移植は臨床において広く用いられているが、移植された脂肪細胞の運命はほとんど解明されておらず、生着率を判定する方法も確立されていなかった。

## 2. 研究の目的

(1) 蛍の発光遺伝子を組み込んだ luciferase transgenic rat (luc-Tg rat) の脂肪組織を用いた移植実験を行うことにより、移植された脂肪組織の viability を経時的に測定する方法を確立する。

(2) 上記(1)によって確立された測定方法を用いて、様々な移植方法における脂肪組織の生着量を観察する。

### 3. 研究の方法

(1) luc-Tg rat から採取した脂肪組織を Lewis rat に移植した。移植方法としては後述の如く単純な遊離移植、もしくは顕微鏡下血管吻合による血管柄付遊離移植を用いた。

#### (ロ)遊離移植

luc-Tg rat の傍精巣上体脂肪から 0.3cc の脂肪組織を採取し、Lewis rat の背部皮下に移植した。

#### (ハ)血管柄付脂肪移植

luc-Tg rat の鼠径脂肪から、大腿動静脈を茎とした 1.5cc の血管柄付遊離脂肪弁を採取し、顕微鏡下微小血管吻合を用いて、Lewis rat の鼠径部に移植した。

術後は経時的に D-luciferin を陰茎静脈より静注した後、in vivo imaging system (IVIS) を用いて、graft から発せられる luminescent signal を測定・比較した。

(2) graft を摘出し TUNEL 染色を行った。また、遊離脂肪移植において、Caspase inhibitor 投与群と非投与群における TUNEL 陽性細胞数を比較した。

### 4. 研究成果

(1) 血管柄付遊離脂肪移植群 (free adiposal flap : FAF群) では、flapからの luminescent signalの最大値は観察期間を通じてほぼ一定であった。各観察点における signalの最大値はD-luciferin静注後2-3分後に得られた。

この結果は、血管柄付遊離脂肪移植における graftへの血流が術直後より保たれることにより、ほとんど全ての脂肪組織が生着していることを表しており、近年乳癌切除後の乳房再建などにおける血管柄付遊離脂肪移植の有用性を確認するものであった。

(2) 遊離脂肪移植群 (free fat graft : FFG群) では、graftからの signalの最大値は、4日目から7日目にかけて急激に増大し、11日目まで一定に推移した後、12日目から17日目に

かけて急激に低下した。その後は6日目まではほぼプラトーであった。移植後3日目までは、D-luciferin静注後の信号強度の増加はゆるやかであったが、4日目から7日目にかけての間に FAF群とほぼ同じ増加曲線を描くようになり、その時期に graftへの血流が回復したことが示唆された。

(3) また術後12日目の TUNEL陽性細胞数は、FAF群より FFG群の方が有意に多かった。FFG群において移植時に Caspase inhibitorを局所投与すると、術後の luminescent signalは有意に高くなった。以上より、free fat graftの術後吸収には、従来考えられていた虚血による necrosisのみではなく、血流回復後の apoptosisも関与していることが示された。

今回の研究は、移植された脂肪組織の生体内における viability の計測に初めて成功したものである。我々の方法は、移植方法や薬剤投与などが、移植脂肪の生着率に対してどのように影響するかを容易に判定できるため、今後の脂肪移植の基礎研究において非常に有用であると考えられる。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 6 件)

①須永中、菅原康志、宇田宏一、去川俊二、山口亜佐子、小林英司

In vivo bioluminescence imaging を用いた脂肪移植のin vivo tracking  
第17回日本形成外科学会基礎学術集会、2008年10月2日、東京

②須永中、菅原康志、小林英司：In vivo bioluminescence imagingを用いた脂肪移植のin vivo tracking. 第7回自治医科大学シンポジウム、2008年8月30日、下野

③須永中、菅原康志、宇田宏一、去川俊二、山口亜佐子、倉地功、小林英司

In vivo bioluminescence imaging を用いた脂肪移植の実験～その2：血管柄付き遊離脂肪移植のin vivo tracking  
第16回日本形成外科学会基礎学術集会、2007年10月2日、神戸

④須永中、菅原康志、宇田宏一、去川俊二、山口亜佐子、倉地功、小林英司

In vivo bioluminescence imaging を用いた脂肪移植の実験～その1：遊離脂肪移植のin vivo tracking  
第16回日本形成外科学会基礎学術集会、2007年10月2日、神戸

⑤Ataru Sunaga, Eiji Kobayashi, Yasushi Sugawara

In vivo bioluminescent imaging of cell tracking from the transplanted adipose tissue in rats  
7<sup>th</sup> International symposium on composite tissue allotransplantation、2007年9月、Seefeld

⑥須永中、菅原康志、小林英司：ルシフェラーゼ遺伝子組み換えラットを用いた脂肪移植.  
第13回ケロイド・肥厚性瘢痕研究会、2007年3月、東京

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]  
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須永 中(SUNAGA ATARU)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：00406117

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし