

令和元年6月25日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11375

研究課題名(和文)凍結保存脂肪組織を材料とした新規移植治療法の開発に関する研究

研究課題名(英文)Development of therapies using frozen adipose tissue

研究代表者

去川 俊二 (Sarukawa, Shunji)

自治医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：90324194

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：免疫染色では凍結保存した脂肪組織の脂肪細胞はすべて死亡していることが明らかとなった。脂肪幹細胞についても、生存しているものの、割合は小さかった。さらに、脂肪移植の動物実験において、新鮮脂肪組織の移植と比較して、大きく劣ることがわかった。今回の研究によって、現存する脂肪組織の凍結保存方法では、一定の幹細胞は保存できるものの、脂肪細胞は不可能である。幹細胞についても細胞としての凍結保存に比べて、大きく劣ることが分かった。再生医療の重要な細胞源とされる脂肪組織の利用法の最適化について、新しい知見を与えた。組織としての凍結では効率が悪いいため、何らかの方法を開発する必要があることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究によって、現存する脂肪組織の凍結保存方法では、一定の幹細胞は保存できるものの、脂肪細胞は不可能であることがわかった。幹細胞についても細胞としての凍結保存に比べて、大きく劣ることが分かった。再生医療の重要な細胞源とされる脂肪組織の利用法の最適化について、新しい知見を与えた。組織としての凍結では効率が悪いいため、何らかの方法を開発する必要があることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Immunohistochemistry revealed that most adipocytes were necrotic. The cell number and viability of SVF cells were significantly decreased in cryo fat, compared to fresh fat ( $3.9 \times 10^5$  cells, 90.6% viable). Although adipose-derived stem cells (ASCs) successfully were cultured from all fats, functional ASCs from cryopreserved fats were much smaller in number with comparable multi-lineage differentiating capacity. In vivo studies revealed that all of the cryopreserved fats maintained their volume to some extent; however, the cryopreserved fats were mostly filled with dead tissue and produced significantly lower engraftment scores than fresh fat. Most of adipocytes were killed in the process of cryopreservation and thawing. ASCs were isolated from cryopreserved fats, but the number of functional ASCs was very limited in both cryopreservation methods. After grafting, cryopreserved fat retained as dead and fibrous tissue, suggesting a risk of clinical complications such as oil cysts.

研究分野：形成外科

キーワード：脂肪 幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

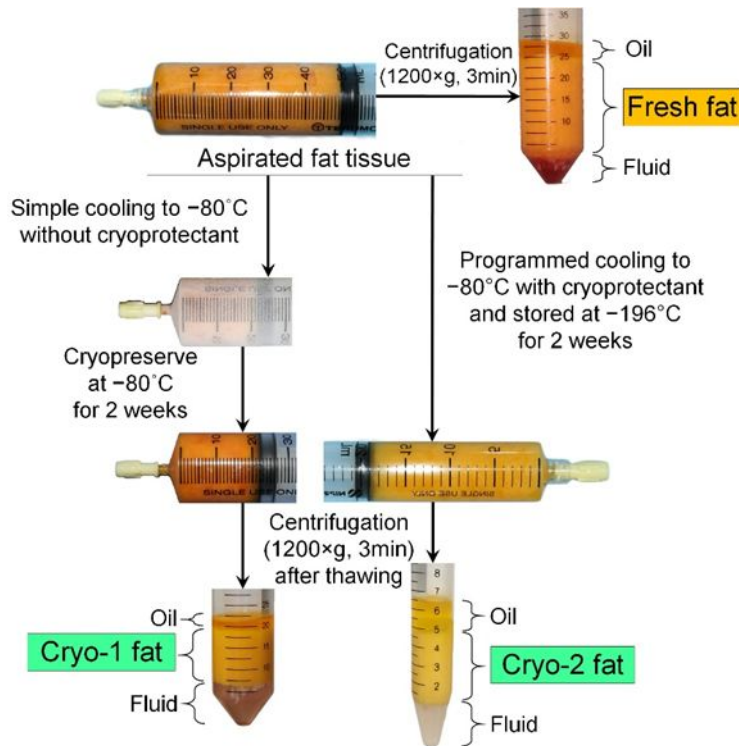
幹細胞を豊富に含む組織として、脂肪組織が注目されるようになって久しい。しかし、その保存方法はいまだに未知であり、開発されれば、再生医療の発展に大きく寄与することが期待される。

### 2. 研究の目的

脂肪組織の新しい凍結保存方法を開発すること、ならびに医療材料としての凍結保存脂肪組織の有用性を確立すること。

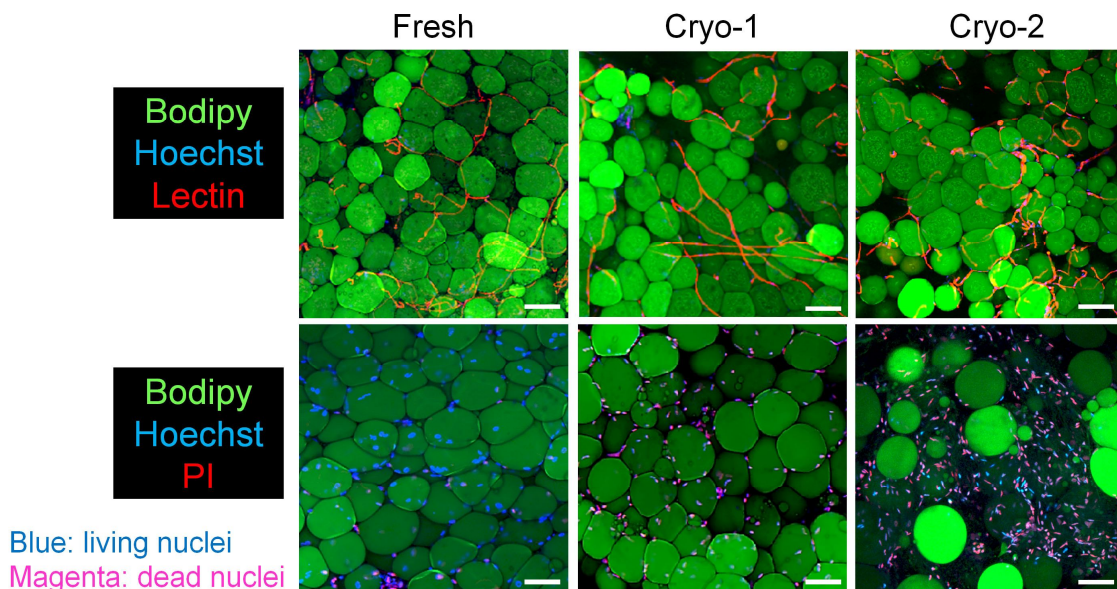
### 3. 研究の方法

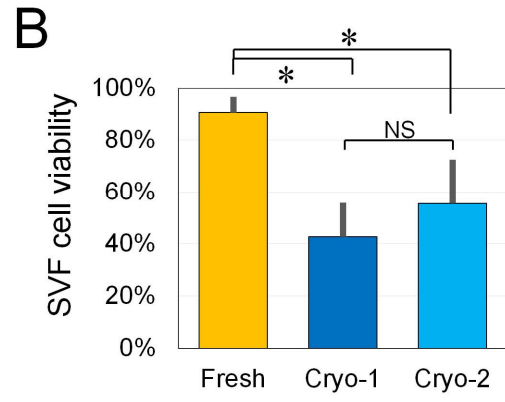
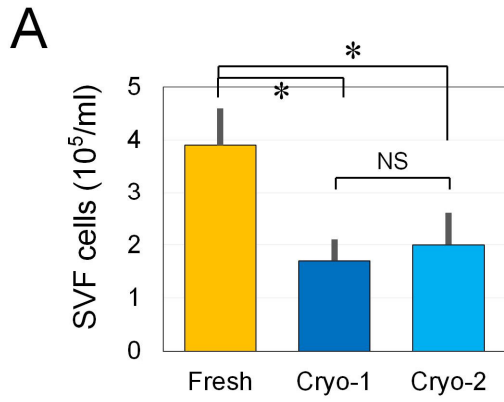
新規に開発した凍結保存方法を用いて、従来のもものと比較を行う。保存脂肪組織を、解凍して、その中の細胞の構成、生存率、移植組織としての有用性を、in vitro, in vivo (動物実験) で検証する。下図参照。



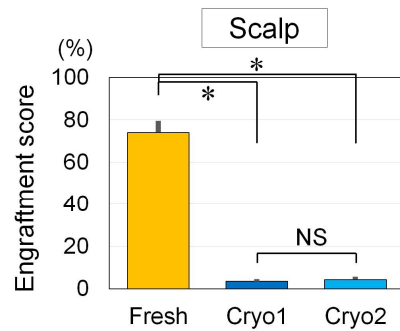
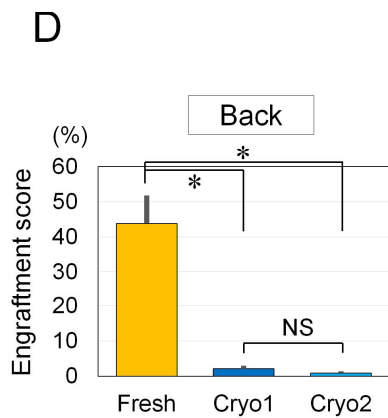
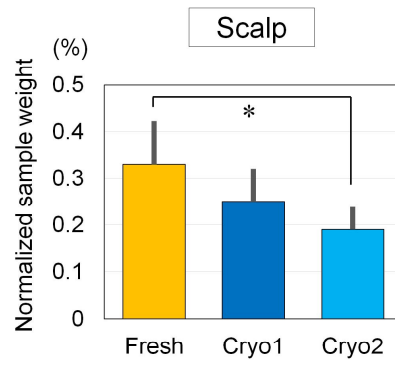
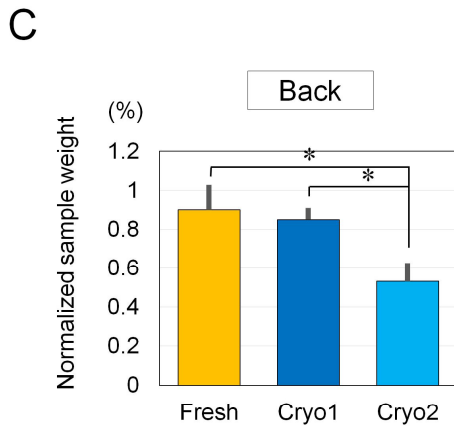
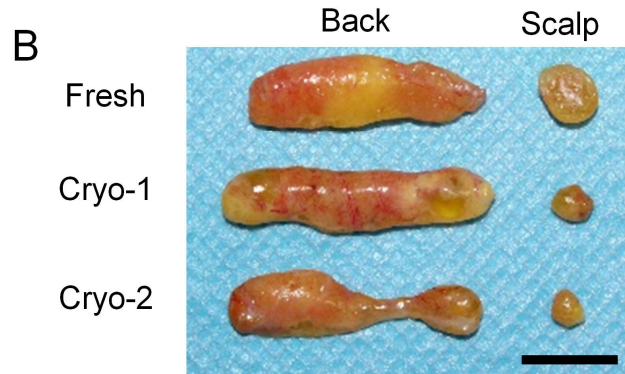
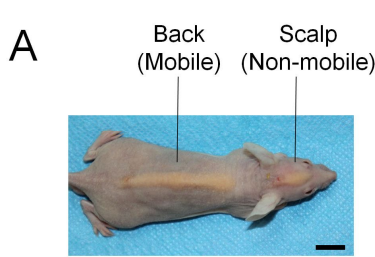
### 4. 研究成果

免疫染色では凍結保存した脂肪組織の脂肪細胞はすべて死亡していることが明らかとなった。脂肪幹細胞についても、生存しているものの、割合は小さかった。



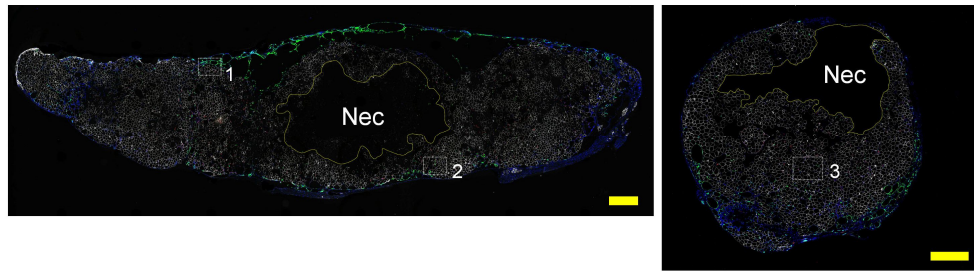


さらに、脂肪移植の動物実験において、新鮮脂肪組織の移植と比較して、大きく劣ることがわかった。

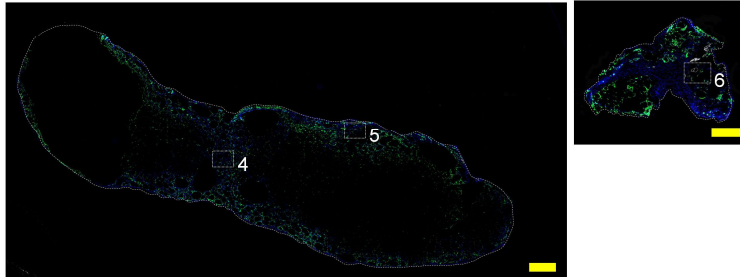


Perilipin / Hoechst / vWF / MAC2

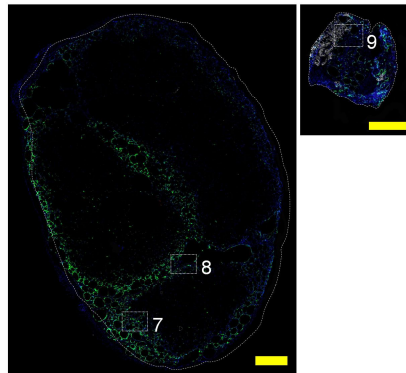
Fresh



Cryo-1



Cryo-2



今回の研究によって、現存する脂肪組織の凍結保存方法では、一定の幹細胞は保存できるものの、脂肪細胞は不可能である。幹細胞についても細胞としての凍結保存に比べて、大きく劣ることが分かった。再生医療の重要な細胞源とされる脂肪組織の利用法の最適化について、新しい知見を与えた。組織としての凍結では効率が悪いいため、何らかの方法を開発する必要があることが明らかとなった。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Mashiko T, Wu SH, Kanayama K, Asahi R, Shirado T, Mori M, Sunaga A, Sarukawa S, Uda H, Yoshimura K. Biological properties and therapeutic value of cryopreserved fat tissue. **Plast Reconstr Surg** 141: 104-115, 2018. (査読 有)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：吉村 浩太郎

ローマ字氏名：( YOSHIMURA, kotaro )

所属研究機関名：自治医科大学

部局名：外科学 形成外科学部門

職名：教授

研究者番号 ( 8 桁 ) : 60210762

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。