様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　(共通)

科研費
KAKENHI

# 科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　３０　年　　６　月　１５　日現在

機関番号：３４４１７
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2015～2017
課題番号：１５Ｋ１５６５７

研究課題名（和文）インジェクタブル人工脂肪の開発

研究課題名（英文）Development of a novel injectable bioabsorbable implant substituted by adipose tissue in vivo

研究代表者
森本　尚樹（MORIMOTO, Naoki）

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：４０３７８６４１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、最終的に自家脂肪組織に置換されるインジェクタブル（注射可能）な吸収性人工材料の開発を目的として研究開発を行った。PLLA(ポリ-L-乳酸)の吸収性縫合糸をメッシュ状に編んだものにコラーゲンスポンジ（CS）を組み込み作成した埋入材ではPLACL(乳酸カプロラクトン共重合体)を用いた埋入材よりも生体内（ラットそけい部皮下）で長期間形態を維持し、移植1年後の脂肪形成が有意に優れていた。

研究成果の概要（英文）：We prepared the implants with collagen sponge (CS), using threads of either poly‐L‐lactide‐co‐ε‐caprolactone (PLACL) or poly‐L‐lactic acid (PLLA), and implanted them in the rat inguinal region.At 12 months after implantation, the internal space was maintained and the formation of adipose tissue was significantly promoted in the PLLA group.

研究分野：形成外科

キーワード：吸収材料　脂肪　埋入

## １．研究開始当初の背景

ある程度（数 10mL 以上）の大きな軟部組織欠損を再建するには、患者自身の組織を他の部位から採取し移植する自家組織移植手術（腹直筋皮弁など）が行われるが、手術侵襲の大きさや移植組織採取部位の瘢痕、醜形が問題となる。吸引などで採取した破砕脂肪組織を移植する脂肪注入法も行われるが生着率が低い(10-30%程度)ことが問題となる。最近、脂肪組織から分離した脂肪由来間質細胞（Adipose-derived Stem/Stromal Cell: ASC）を遊離脂肪と適切な割合で混和し注入すれば生着率が向上すること（Yoshimura et al. Regen Med.2009）が報告され、手術中に細胞分離を行う機器も開発されている。しかし、移植された ASC が生着、分化し成熟脂肪組織となるのか、ASC 自身は生着せず成長因子などの生理活性物質を分泌し、移植部位の脂肪再生を促進するだけなのか、未だに議論がある。

脂肪組織の再生には、脂肪に分化する幹細胞と足場（Scaffold）が必要であるとされ、上述の治療では ASC を幹細胞、自家脂肪を足場として用いている。しかし、移植された脂肪組織、ASC は移植床からの血流がないため、拡散による栄養供給が可能な移植床から数百μm 程度の範囲しか生着しないはずである。申請者らは、自家脂肪を用いなくても ASC と吸収性材料で脂肪再生が可能であること（**Ito**, **Morimoto**,et al. J Tissue Eng Regen Med. 2012）を報告し、遊離脂肪がなくても脂肪再生は可能であることを報告した。更に、吸収性人工材料（コラーゲンスポンジ）を非吸収性鋳型内に入れ脂肪組織近傍に埋入すると鋳型内に脂肪細胞が侵入し、半年から１年後に脂肪組織が形成されることを報告した（Tsuji, Morimoto, et al. J Artif Organs. 2013）。これらは脂肪組織を再生させるには、必ずしも ASC を移植する必要はなく、生体組織内に存在する細胞を誘導すればよいこと、誘導するためには組織の緊張（圧力）を取り除き、ASC が遊走し成熟脂肪に分化できる場の存在が重要であること、を示唆している。この緊張の除去の重要性については、皮膚の緊張が強い部位では注入脂肪の生着が悪い、という臨床経験とも一致する。

## ２．研究の目的

乳癌切除後の乳房欠損や頭頸部腫瘍切除後の軟部組織欠損は外観上及び精神的に大きな負担となる。自家組織（皮弁）移植あるいはシリコンインプラントなどの人工物を用いて再建されるが、手術侵襲、採取部の犠牲、人工物の長期埋入の合併症などが問題となる。脂肪注入も行われるが生着率は低い。近年、細胞を用いた再生医療が発展したが、安全性、コスト面などの課題が多く、標準治療とはなっていない。生体材料を用いる組織工学（Tissue Engineering）も発達し、人工皮膚、人工骨など最終的に自家組織に置換される人工材料が臨床応用されている。しかし、脂肪組織では一時的な補填材料があるのみで、移植後自家脂肪が再生する“人工脂肪”に相当する材料は開発されていない。本研究では、最終的に自家脂肪組織に置換される、インジェクタブル（注射可能）な吸収性人工材料の開発を目的とする。

## ３．研究の方法

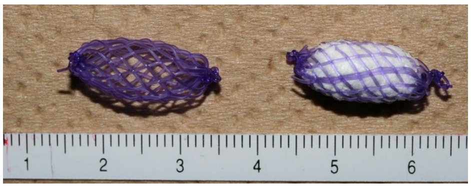
強度保持材料の鋳型の中に吸収性保持材料を組み込み、埋入材料及びインジェクタブル材料を作製する。ラット及び白色家兎を用いた脂肪再生の検討を行う。

①　ラットを用いた脂肪再生検討

コラーゲンスポンジ（CS）は市販されている医療材料（人工真皮）を用いる。吸収性強度保持材料として（PLACL(乳酸カプロラクトン共重合体及び PLLA(ポリ-L-乳酸))を用いる。これらの素材でできている臨床使用されている縫合糸を用いて強度保持材料を作製する。

ｉ）皮下埋入材料；医療用縫合糸の規格に従って作製された直径 0.20mmの太さの縫合糸を用意する。これらの強度を増加させる方法で線維状に編み、足場材料を埋入可能な鋳型を作製する。この中に CS もしくは CGS を挿入する。ラット実験には１.５ｃｍｘ5mmの埋入材を準備する。これらの埋入材の強度に関して、乳癌術後患者に同意を得て、組織拡張器の内圧測定を、開始時、拡張中盤、拡張終了時に行い計測した組織拡張器内圧の最大圧にも耐えられる強度を持たせた。

ラットそけい部に埋入した PLLA 埋入材
（左：CS なし、右：CS あり）



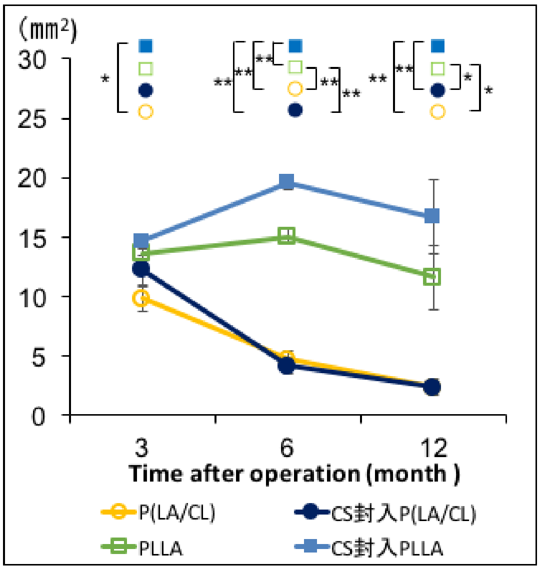

P(LA/CL)埋入材
（左：CS なし、右：CS あり）

ラット（F344）を用いて、そけい部の脂肪組織に接するように以下の 5 群を作成した。1.非手術群、2.sham 手術群,3.吸収性材料（CS）のみ埋入,4.強度保持材料（PLACL、PLLA）のみ埋入,5.強度保持材料にそれぞれの吸収性材料を組み込んだ群を埋入し、3 ヶ月後、6 ヶ月後、1 年後に組織採取した（各群 n=6 以上)。これらの検体を埋入後 3,6,12 ヶ月で摘出し、脂肪形成を観察した。組織の

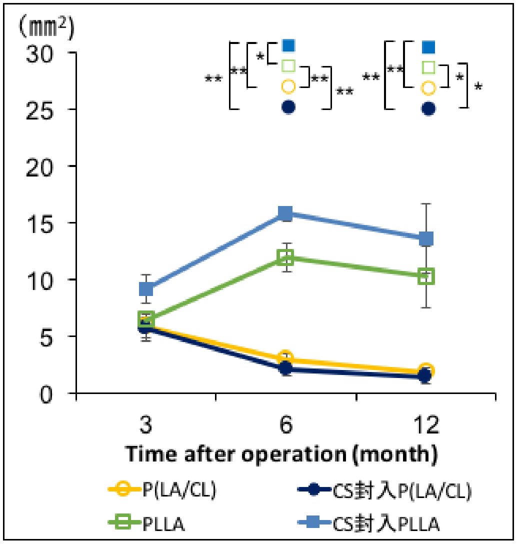
観察は、脂肪重量、脂肪面積及び oil red O 染色での脂肪組織の生成確認、抗 CD31 免疫染色による血管形成評価を行った

② 白色家兎を用いた脂肪再生検討
　白色家兎には上記と同様の材料を用いて 2.5ｃｍｘ1ｃｍのものを準備し、そけい部皮下に移植した。

４．研究成果
①ラットを用いた脂肪再生検討：移植 3、6、12 か月後に組織採取し、implant 残存、組織量、implant 内腔面積、内腔に形成された結合組織、脂肪組織の断面積を評価した。



Implant 内腔の面積推移



implant 内部に形成された脂肪断面積の推移

　sham-operation 群のみ 6 ヵ月で脂肪組織が減少した。CS は移植後 3 ヵ月で吸収された。P(LA/CL)群では 6 ヵ月以降内腔を維持できなかった。PLLA 群のみ 12 ヵ月まで内腔を維持し、CS 封入群で内腔の脂肪形成が最も優れていた。これらの材料は臨床研究での乳房埋入時の圧力（0.55N）でひずまないことを確認した。以上から CS 封入 PLLA は脂肪再生材料、特に脂肪増量材料として使用できると考えられた。

② 白色家兎を用いた脂肪再生検討
白色家兎には上記と同様の材料を用いて 2.5ｃｍｘ1ｃｍのものを準備し、そけい部皮下に移植した。これらはまだ組織採取が終了しておらず、いまのところ結果が得られていない。
　また、インジェクタブルな材料に関しては、作製方法について現在試行錯誤しており、試作を行ったが、使用に耐えうる材料ができておらず、in vivo での埋入実験が開始できなかった。これは今後の課題として開発を継続する予定である。

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 1 件）
① Ogino S, Morimoto N, Sakamoto M, Jinno C, Yoshikawa K, Enoshiri T, Sakamoto Y, Taira T, Suzuki S. Development of a novel bioabsorbable implant that is substituted by adipose tissue in vivo. J Tissue Eng Regen Med. doi: 10.1002/term.2482.2018Mar;12(3):633-641. Epub 2017 Sep 28. 査読有

〔学会発表〕（計 3 件）
① 荻野秀一、森本尚樹、坂本道治、坂元悠紀、 鈴木茂彦．生体で脂肪に置換される吸収性材料の開発．第 47 回日本創傷治癒学会.2017.11.27-11.28.メルパルク京都（京都・京都市）
② 荻野秀一、森本尚樹、坂本道治、神野千鶴、坂元悠紀、鈴木茂彦．生体で脂肪に置換される吸収性材料の開発．第 25 回日本形成外科学会基礎学術集会.2016.9.15-9.16.コングレコンベンションセンター（大阪・大阪市）
③ Shuichi Ogino, Naoki Morimoto, Michiharu Sakamoto, Chizuru Jinno, Yuki Sakamoto, Tsuguyoshi Taira, Shigehiko Suzuki. The development of a novel bioabsorbable implant that is substituted by adipose tissue in vivo. the 2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific

Meeting.2016.9.3-9.台北（台湾）

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0　件）

６．研究組織

(1)研究代表者

森本　尚樹（MORIMOTO, Naoki）
関西医科大学・医学部・准教授
研究者番号：40378641

(2)研究分担者

覚道　奈津子（KAKUDO, Natsuko）
関西医科大学・医学部・講師
研究者番号：00509490

河合　勝也（KAWAI, Katsuya）
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号：90273458

伊藤　蘭（ITO, Ran）
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：00769821

(3)連携研究者

山岡　哲二（YAMAOKA, Tetsuji）
研究者番号：50243126

(4)研究協力者

坂元　悠紀（SAKAMOTO, Yuki）
グンゼ株式会社　QOL 研究所