

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10015

研究課題名（和文）コラーゲン添加とマクロファージ誘導による新しい脂肪移植の方法の確立

研究課題名（英文）New fat transplantation method by collagen addition and macrophage induction

研究代表者

松村 一（Matsumura, Hajime）

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：80256263

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：移植脂肪組織へのコラーゲン添加により、Adiponectin mRNA発現レベルを増加させ、組織学的に生脂肪細胞数の増加を認めた。また、VEGF mRNAレベルは増加傾向にあり、組織学的には新生血管の増加を認め、コラーゲン添加が移植脂肪組織における新生血管の増生に寄与している可能性が示唆された。また、コラーゲン添加は、移植脂肪組織中のM1・M2マクロファージを増加させることが示され、組織のリモデリングに寄与している可能性が示された。移植脂肪へのコラーゲン添加は、生脂肪細胞数の増加、血管新生の促進、マクロファージの誘導などを通して移植脂肪の生着率を増加させることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪移植は比較的侵襲の少ない手術であり、頭蓋顔面領域手術の術後や乳房切除術後の再建術などの様々な場面にいて広く行われている。しかし、現行の方法では1回の移植量が限られており、また、移植脂肪組織には血流がないことから、移植組織は阻血に陥り、その大半は壊死してしまうことから、生着が不安定であり、複数回の移植が必要となることが多い。また、その効果や合併症に関してもばらつきが大きく、術者の技量に左右されるという報告も多く見られ、現行の方法には依然改良の余地があると言わざるを得ない。今回の研究ではコラーゲン添加をすることでより生着を促す脂肪移植の研究に繋がった。

研究成果の概要（英文）：The addition of collagen to the transplanted adipose tissue increased the level of Adiponectin mRNA expression and histologically increased the number of viable fat cells. In addition, VEGF mRNA levels were on the rise, and histologically, an increase in neovascularization was observed, suggesting that collagen addition may contribute to the growth of neovascularization in transplanted adipose tissue. In addition, collagen addition was shown to increase the number of M1 and M2 macrophages in transplanted adipose tissue, indicating that it may contribute to tissue remodeling. The addition of collagen to transplanted fat has been shown to increase the engraftment rate of transplanted fat by increasing the number of viable fat cells, promoting angiogenesis, and inducing macrophages.

研究分野：脂肪注入

キーワード：脂肪注入 脂肪移植 コラーゲン添加 血管新生 マクロファージ

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪移植は比較的侵襲の少ない手術であり、血管吻合などの高度な手技も必要がなく比較的安易な手術であることから、頭蓋顔面領域手術の術後や乳房切除術後の再建術などの様々な場面において広く行われている。しかし、現行の方法では1回の移植量が限られており、また、移植脂肪組織には血流がないことから、移植組織は阻血に陥り、その大半は壊死してしまうことから、生着が不安定であり、複数回の移植が必要となることが多い。また、その効果や合併症に関してもばらつきが大きく、術者の技量に左右されるという報告も多く見られ、現行の方法には依然改良の余地があると言わざるを得ない。

移植した脂肪組織は周囲組織から毛細血管が進入することで生着するが、その過程に時間を要し、血流が維持できない時には、脂肪壊死・瘢痕組織となる。従って、脂肪移植を安定して生着させるためには、移植脂肪組織への血流再開を早めることと、移植脂肪自体の虚血耐性を高めることが必要となる。

我々は以前、脂肪組織から得られた lipid fraction を人工真皮に添加することで、人工真皮内への早期の血管新生が誘導されることを報告した。人工真皮は、コラーゲンを含有し、コラーゲンは血管新生を誘導することが知られていることから、我々はこの経験を通して、機序不明ながらコラーゲンと脂肪細胞の相互効果によってより強力な血管新生が促されている可能性を考え、移植脂肪組織にコラーゲンを添加することで、より強力な血管新生が誘導され、移植脂肪の生着率が improve されると仮説を立て、検証した。

## 2. 研究の目的

移植後の脂肪組織は虚血環境に置かれ、組織壊死や組織リモデリングが生じる。このリモデリング過程にはマクロファージの遊走が強く関与している。マクロファージは M1 マクロファージと M2 マクロファージに大別され、M1 マクロファージは組織の生着に必要な炎症反応の誘導と壊死脂肪組織のスカベンジング、M2 マクロファージは組織修復に関与しており、両者とも脂肪組織のリモデリング、生着過程において重要な役割を担っている。さらにマクロファージは血管新生や活性幹細胞を誘導することにより脂肪移植片の生存を改善する。今回の研究で、移植脂肪組織にコラーゲンを添加することで移植組織中の M1, M2 マクロファージが有意に増加することが示された。特に M2 マクロファージの増加は顕著で、この結果は、移植脂肪組織へのコラーゲン添加が、組織リモデリングに必要な炎症反応の誘導と強力な組織修復作用を誘導している状況を反映していると考えられる。そのため今回の研究では脂肪生着とマクロファージとの関係について検証することにした。

## 3. 研究の方法

SD ラット雌を用いて鼠径から採取した脂肪を細断、洗浄・遠心分離し、コントロール群、コラーゲン添加群の移植脂肪検体を作成した。18G カニューレを用いて同一個体背部にコールドマン法を用いて注入を行った。注入1週後の移植脂肪を採取し、マクロファージをフローサイトメトリーを用いて評価した。(N=12) 統計解析は paired Wilcoxon 検定で行った。また注入後移植脂肪を採取し、生着脂肪の半定量的評価、生着した組織を HE 染色、perillipin 染色し、生脂肪細胞量と血管新生について評価した。(N=25)

## 4. 研究成果

半定量的評価では、注入1週間後において、コントロール群に比してコラーゲン群でより高い生着率を示した [コントロール vs コラーゲン:  $1w (0.27 \pm 0.35$  vs  $0.52 \pm 0.37)$ ]。生着脂肪の組織 perillipin 染色においては、コラーゲン群ではより多くの脂肪細胞を認めた。HE 染色で新生血管数を比べた結果、コラーゲン群においてより多くの新生血管を認めた[コ

コントロール群 vs コラーゲン添加群：1w (  $3.33 \pm 0.58$ /視野 vs  $14.33 \pm 0.58$ /視野 )、4w (  $3.33 \pm 1.15$ /視野 vs  $23.33 \pm 4.93$ /視野 ) ] (n=3, p<0.05)。フローサイトメトリーにおいて、総細胞数、総マクロファージ数、M1 マクロファージ ( CD68+/CD86+/CD163-/cell )、M2 マクロファージ ( CD68+/CD86-/CD163+/cell ) でコラーゲン添加群ではコントロール群に比して各細胞数が増加していた ( p<0.05 )。また、コラーゲン添加群においては、コントロール群に比べて M2/M1 比が増大している傾向を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Chika, Komiya Takako, Inoue Hana, Yoshimoto Takayuki, Matsumura Hajime	4. 巻 -
2. 論文標題 Adding collagen to adipose tissue transplant increases engraftment by promoting cell proliferation, neovascularisation and macrophage activity in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Wound Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iwj.13706	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木知佳
2. 発表標題 コラーゲン添加による血管誘導を応用した脂肪移植について
3. 学会等名 第31回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 知佳  (Suzuki Chika)  (40809597)	東京医科大学・医学部・客員研究員   (32645)	
研究分担者	小宮 貴子  (Komiya Takako)  (00385105)	東京医科大学・医学部・准教授   (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------