

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09865

研究課題名(和文) 大網と脂肪由来幹細胞を用いた新たな乳房再建の試み

研究課題名(英文) Trial of Breast Reconstruction Using large omentum and Adipose-Derived Stem Cells

研究代表者

八木 俊路郎 (YAGI, Shunjiro)

鳥取大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00378192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：肉眼的ボリューム評価を行ったところ、脂肪・大網注入群いずれもADSCs併用使用群よりはPBS併用使用群の方が良好な形態を維持した。脂肪注入群と大網注入群で、ボリュームの程度に有意差は見られなかったが、大網の方が脂肪の完全性が保たれているほか、嚢胞や空洞にはなりにくかった。また、壊死の程度を比較検討すると、他の3群と比較して脂肪+ADSCs併用群において壊死が起きにくい傾向があることが分かった。今回集め得たデータのみでは大網を使用することの有用性を示すことはできなかったが、脂肪注入と同等もしくはそれ以上の有用性を持つ可能性があり、今後さらなるデータ収集に努める必要があると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌に対する乳房温存変形に対する従来の移植物質である皮下脂肪とADSCsを得るには腹部から大量の皮下脂肪を吸引採取する必要がある。注入された移植組織の一部は吸収されるため、生着率の向上が臨床上的大きな課題となっていた。大網は脂肪組織と膠原線維・弾性線維を含み可塑性に富むため、乳房再建の材料として適していると考え、大網単独移植に加えてADSCsを混合移植することの有用性・メカニズムを検討したところ、形態学的には脂肪・大網注入群いずれもPBS併用使用群の方が良好な形態を維持することが分かったが、今回集め得たデータのみでは有意差がなく、さらなる大規模研究が必要であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Volume evaluation showed that both fat and large omentum injection groups maintained better morphology in the group using PBS than in the group using combined ADSCs. Although there was no significant difference in the degree of volume between the fat and large omentum injection groups, the large omentum maintained fat integrity better and was less prone to cysts and cavities. Comparison of the degree of necrosis showed that necrosis was less likely to occur in the fat + ADSCs group than in the other three groups. Although the data collected in this study alone did not demonstrate the usefulness of using a large omentum, it may be as useful as or more useful than fat injection, and further data collection is needed in the future.

研究分野：形成外科学

キーワード：乳房再建 脂肪組織由来幹細胞 大網 再生医療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳癌に対する乳房温存変形に対し、皮下脂肪細胞と皮下脂肪由来幹細胞を用いた乳房再建が臨床応用されているが、乳房再建に必要な皮下脂肪と ADSCs を得るために腹部から大量の皮下脂肪を吸引して採取する必要がある。また、注入された移植組織の一部は吸収されるため、生着率の向上が臨床上的大きな課題となっていた。大網は脂肪組織と膠原線維・弾性線維を含み可塑性に富むため、乳房再建の材料として適していると考えられる。また、多くのリンパ組織を含むため感染には強いとされているため、大網を乳房再建材料として移植し、更に生着率を上げるために ADSCs を混合移植することの有効性・メカニズムを検討する。

2. 研究の目的

- (1)大網移植が新たな乳房再建材料として使用できるかをマウス背部皮下への移植で確認する。
- (2)移植サンプルの組織学的評価を行う。

実臨床において大網移植は腹腔鏡で採取でき、小切開で済むことから皮弁移植に比べて採取部位の犠牲が少ない点、また乳がん再発時の自家組織移植による再建材料としての腹部の皮弁を温存できるという点で乳房再建術と比較して利点がある。本研究において大網が乳房再建材料として適していることが証明されれば、乳房再建を必要とする患者にとってはより意義のある治療選択肢が確立されることとなる。

3. 研究の方法

(1)乳房再建モデルマウスの作製

12匹の Balb c-nu/nu マウス(雄, 8~10 週齢)を用いて乳房再建モデルマウス作成を試みた。Pilot 実験として、既報告で使用されていた乳房再建モデルマウスを作製し、本研究に使用できるかを確認した。Balb c-nu/nu マウスの背部皮下に0日目に注入したものを3ヶ月後に観察した。注入する組織の量と注入位置を数回変えてモデルマウスを確立した。



図1: 脂肪組織もしくは大網組織 0.2g と 200 μ L の
PBS もしくは ADSCs で懸濁して注入

(2)脂肪組織、大網および脂肪組織由来幹細胞の注入

Lewis ラット(雄, 8 週齢)を用いて脂肪組織と大網組織、脂肪組織由来幹細胞(ADSCs)の回収を行った。各ラットから約 0.8g の脂肪組織と約 0.4g の大網組織が採取できた。本研究に使用した ADSCs は 3.0×10^5 cells/200 μ L PBS で懸濁した。

脂肪組織(0.2g) + PBS(200 μ L)注入群、脂肪組織(0.2g) + ADSCs(200 μ L)注入群、大網(0.2g) + PBS(200 μ L)注入群、大網(0.2g) + ADSCs(200 μ L)注入群の4群に分けた。

(3)マウス背部の形態モニタリング

術後3ヶ月、6ヶ月時点でマウス背部に注入した組織の形態を確認するために、鎮静下での観察と写真撮影を行った。

(4)注入組織の組織学的解析

術後6ヶ月時点でマウスを安楽死させ、移植した組織の直上にある皮膚を1cm x 1cmの正方形に切り取ったものをサンプルとして各個体ごとに4サンプルずつ採取し、合計48サンプルを採取

した。まずは 10%中性緩衝ホルマリン固定液で 24 時間固定したのちに PBS で置換した。冷蔵にて試験委託者へ送付し、使用時まで薬用冷蔵保管庫にて 2~8 で保管した。密閉式自動固定砲埋装置および包埋センターを用いて、マウス皮膚の FFPE ブロックを作製し、滑走式マイクロトームにて FFPE ブロックを 4 μ m の設定で薄切し、切片をスライドガラスに貼付して未染標本を作製した。HE 染色は自動染色装置および自動ガラス封入装置を用いて実施、明視野スライドスキャナーを用いて、HE 標本の全体画像を対物レンズ 20 倍の設定で撮影し、バーチャルスライドを作製・送付いただいた(委託業者からの試験報告書より抜粋)。



図 2 : 1cm x 1cm の皮膚を含めて注入組織を切り取ったところ

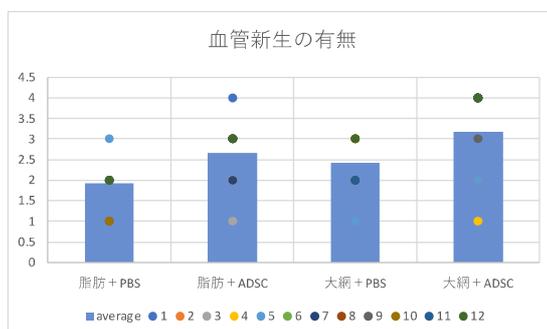
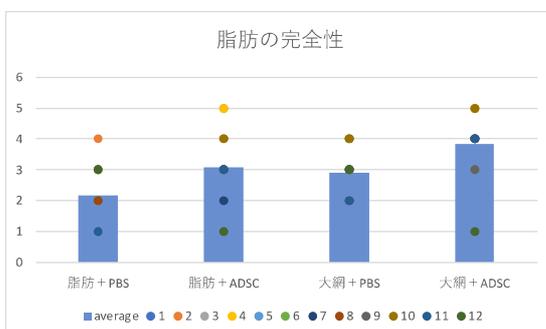
4 . 研究成果

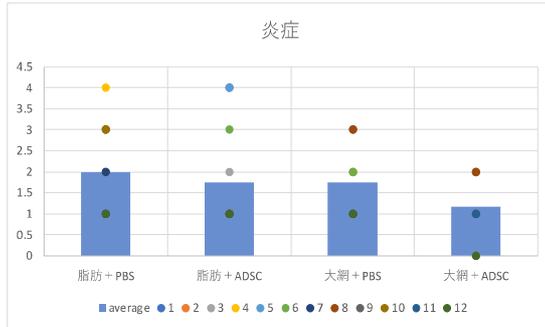
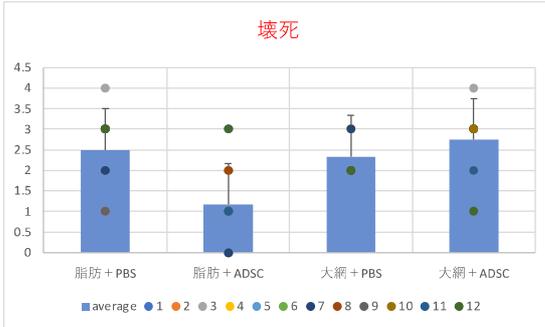
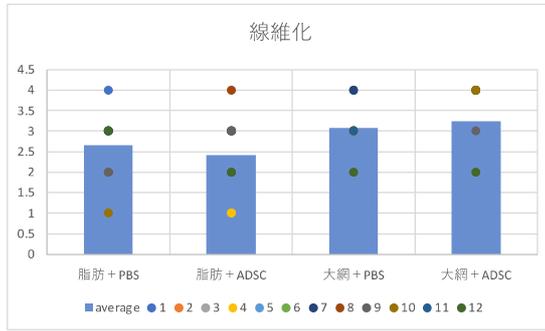
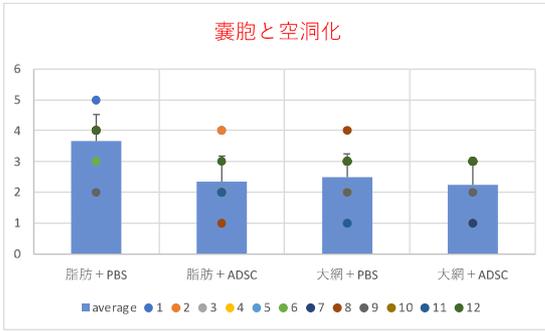
- (1)脂肪単独群において、有意にサンプルの嚢胞と空洞化を多く認めた。
- (2)脂肪 + ADSCs 併用群で有意に組織の壊死所見が乏しかった。
- (3)脂肪の完全性・血管新生の有無・線維化・炎症の項目についても各群で比較したが、それらにおいては有意な差を認めなかった。

肉眼的ボリューム評価を行ったところ、脂肪・大網注入群いずれも ADSCs 併用使用群よりは PBS 併用使用群の方が良好な形態を維持することが分かった。脂肪注入群と大網注入群において、ボリュームの程度に有意差は見られなかったが、大網の方が脂肪の完全性が保たれているほか、嚢胞や空洞にはなりにくい傾向があった。

また、壊死の程度を比較検討すると、他の 3 群と比較して脂肪 + ADSCs 併用群において壊死が起きにくい傾向があることが分かった。

今回集め得たデータのみでは大網を使用することの有用性を示すことはできなかったが、脂肪注入と同等もしくはそれ以上の有用性を持つ可能性があることが分かったため今後さらなるデータ収集に努める必要があると考えた。





乳癌に対する乳房温存変形に対し、皮下脂肪細胞と皮下脂肪由来幹細胞を用いた乳房再建が臨床応用されているが、乳房再建に必要な皮下脂肪と ADSCs を得るために腹部から大量の皮下脂肪を吸引して採取する必要がある。また、注入された移植組織の一部は吸収されるため、生着率の向上が臨床上的大きな課題となっていた。大網は脂肪組織と膠原線維・弾性線維を含み可塑性に富むため、乳房再建の材料として適していると考えられるため、大網を乳房再建材料として移植すること、更に ADSCs を混合移植することの有用性・メカニズムを検討する。初年度は、Lewis ラットを用いて両側の背部皮下に脂肪組織、大網組織、それらに ADSCs を混合したものを移植して形態学的評価を行ったが複数回において皮下で脂肪融解を起こし擬似乳房の形態が維持できないことが判明し、原因として実験者の技術的な問題やラットの系統がこれまでと異なっていることを問題点として挙げた。そこで次年度はパイロット実験として乳房再建モデルマウス作製とマウス両側背部皮下への移植方法を検討した。12 週間の時系列形態学的評価を行ったところ、最終時点で大網移植群の方が脂肪組織移植群と比較してより形態の保持に寄与していることが分かったが、更なる検体数での比較検討が必要と考え、最終年度は n=12 と検体数を増やしてサンプル間での形態学的評価と組織学的評価を行った。

結果的に(1)脂肪単独群において、有意にサンプルの嚢胞と空洞化を多く認め、(2)脂肪 + ADSCs 併用群で有意に組織の壊死所見が乏しく、(3)脂肪の完全性・血管新生の有無・線維化・炎症の項目についても各群で比較したが、それらにおいては有意な差を認めないことが分かった。形態学的評価では脂肪・大網注入群いずれも ADSCs 併用使用群よりは PBS 併用使用群の方が良好な形態を維持することが分かり、脂肪注入群と大網注入群いずれもボリュームの程度に有意差は見られないほか大網の方が脂肪の完全性が保たれていることが分かった。

今回集め得たデータのみでは大網を使用することの有用性を示すことはできなかったが、脂肪注入と同等もしくはそれ以上の有用性を持つ可能性があることが分かったため今後さらなるデータ収集に努める必要があると考えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yagi Shunjiro, Sasaki Takafumi, Fukuhara Takahiro, Fujii Kaori, Morita Maki, Fukuoka Kohei, Ikuta Kento, Umeda Ryunosuke, Kanayama Haruka, Suyama Yoshiko	4. 巻 32
2. 論文標題 Hemodynamic Analysis of a Three-Point Suture During Tapering Technique for Microanastomosis Using Computational Fluid Dynamics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Craniofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 2749 ~ 2752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SCS.00000000000007859	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuoka Kohei, Yagi Shunjiro, Suyama Yoshiko, Kaida Wataru, Morita Maki, Hisatome Ichiro	4. 巻 64
2. 論文標題 Effect of Subcutaneous Adrenaline/Saline/Lidocaine Injection on Split-Thickness Skin Graft Donor Site Wound Healing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Yonago Acta Medica	6. 最初と最後の頁 107 ~ 112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.33160/yam.2021.02.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Maki, Sugihara Shinobu, Inoue Yumiko, Suyama Yoshiko, Notsu Tomomi, Yamamoto Yasutaka, Sakaguchi Hiromi, Fukuoka Kohei, Endo Yusuke, Koga Atsuro, Kawamoto Hitoshi, Funakoshi Minoru, Miki Yasunari, Yagi Shunjiro, Ninomiya Haruaki, Hisatome Ichiro	4. 巻 4
2. 論文標題 Angiogenic effects of high molecular weight fucoidan in a mouse ischemic limb model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Vascular Failure	6. 最初と最後の頁 61 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.30548/vascfail.4.2_61	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森田真紀
2. 発表標題 再発性悪性神経膠腫に対するペバシズマブ投与後の創離解に対する治療経験
3. 学会等名 第30回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 陶山淑子
2. 発表標題 頸部郭清時の内頸静脈切離と血栓形成に対して外頸静脈へ端側吻合を行った1例
3. 学会等名 第48回日本マイクロサージャリー学会学術集会
4. 発表年 2021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	福岡 晃平 (FUKUOKA Kohei) (40548781)	鳥取大学・医学部附属病院・医員 (15101)	
研究分担者	久留 一郎 (HISATOME Ichiro) (60211504)	鳥取大学・医学部・教授 (15101)	
研究分担者	森田 真紀 (MORITA Maki) (60838407)	鳥取大学・医学部附属病院・医員 (15101)	
研究分担者	陶山 淑子 (SUYAMA Yoshiko) (90448192)	鳥取大学・医学部附属病院・助教 (15101)	
研究分担者	藤井 香綸 (FUJI Kaori) (80890326)	鳥取大学・医学部附属病院・医員 (15101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	梅田 竜之介 (UMEDA Ryunosuke) (30913793)	鳥取大学・医学部附属病院・医員 (15101)	
研究分担者	生田 健人 (IKUTA Kento) (20913792)	鳥取大学・医学部附属病院・医員 (15101)	

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