

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791909

研究課題名(和文)被包型脂肪移植モデルを用いた効果的な遊離脂肪移植法の開発

研究課題名(英文)Effective fat graft method of using wrapped fat model

研究代表者

吉田 行貴 (YOSHIDA, Yukitaka)

高知大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：90436402

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：形成外科領域において、遊離脂肪移植は悪性腫瘍の再建、外傷後の瘢痕変形、美容など幅広い分野で応用されている。しかし臨床の現場では、その生着率の悪さから、手術回数が数回におよび、患者また医療者の負担となっているケースが多い。今回この研究において、ラットを用いてより効果的な脂肪移植の方法を検討した。具体的には、ラットから採取して筋膜に脂肪塊を包み、それを移植して、その吸収率が抑えられないかを検討した。

研究成果の概要(英文)：In plastic surgery, free fat graft is very general and very important, for example, reconstruction of carcinoma, trauma, cosmetic surgery. But it is very serious problem that graft survival is low, so repeat surgery is required. We examined effective fat graft method that we use wrapped fat model of fascia.

研究分野：悪性腫瘍再建

キーワード：脂肪移植

1. 研究開始当初の背景

形成外科領域において、遊離脂肪移植は悪性腫瘍の再建、外傷後の瘢痕変形、美容など幅広い分野で応用されている。しかし臨床の現場では、その生着率の悪さから、手術回数が複数回におよび、患者また医療者の負担となっているケースが多い。

脂肪組織は、その体積の9割以上を脂肪細胞が占めるが、細胞数で見ると脂肪細胞はわずか2割程度しかなく、脂肪間質細胞(adipose stromal cells 幹細胞を含む)、血管内皮細胞、血管壁細胞、繊維芽細胞、さらに脂肪組織内に存在する血球由来細胞(レジデントマクロファージ、リンパ球)など数多くの細胞が存在する。1)2)脂肪細胞は数年から10年でゆっくりとターンオーバーしており3)毛細血管に接して存在している脂肪組織由来幹細胞が分裂・分化して次世代の脂肪細胞となり、恒常性を維持している。

脂肪組織はほかの臓器に比べて阻血に極端に弱く、3時間の阻血で組織の激しいリモデリングが誘導される。4)脂肪組織の遊離移植を行った場合は、脂肪組織は表面に存在するものを除き壊死を起こし、阻血に強い脂肪組織由来幹細胞が一部の領域を再生させるが、中心部は最終的に壊死組織に陥る。5)すなわち、移植脂肪の生着は、移植された組織の質や大きさ、移植部組織の血行、術後の安静など多くの要因に左右される。

【移植脂肪の生着過程】

遊離脂肪移植では血行が再開するまでの初期、栄養や酸素は周囲組織からの拡散によって供給される。そのため、3日以上にわたり虚血に陥った中心部の組織は壊死してしまう。移植組織の健全性、組織の大きさが重要である。

移植床の出血により血小板が活性化され、PDGF, EGF, TGF- β 等が放出される。移植した脂肪組織への障害に伴い、bFGF, TNF- α 、TGF- β 、DAMPs, プロテアーゼなどが放出される。これらがSDF-1, HGF, VEGFなどの分泌を促し、骨髄脂肪組織に存在する幹細胞や前駆細胞に働きかけることで、モビライゼーションやホーミング、分化誘導に関わっている。6)

虚血が続けば細胞は壊死に陥るが、細胞の種類により虚血への耐性が異なる。成熟脂肪細胞は最も虚血に弱く、3時間の一過性虚血であってもリモデリングが誘導される。7)

移植脂肪の生着過程は表層からの距離によって3種類に分類される。生着領域 再生領域 壊死領域である。生

着領域は移植脂肪組織の表層より100~300 μ mの範囲で、成熟脂肪組織を含めて多くの細胞が生存したままである。組織形態変化は少ないが、移植後5~7日後より間質細胞の活発な分裂が認められ、これはおそらく再生領域でのリモデリングに参与する。再生領域は生着領域の下で、600~1200 μ m程度の幅を占める。成熟脂肪細胞は移植後1~2日で細胞死するものの、生存した脂肪由来幹細胞により成熟脂肪細胞が再構成される。壊死領域では成熟脂肪細胞・脂肪由来幹細胞ともに細胞死に陥るため、組織再生は起こらない。

2. 研究の目的

自家組織移植としての脂肪移植は(Fig8)によって報告されて以来、主に軟部組織のaugmentationの手段として様々な部位に使用されてきた。脂肪移植は手技が簡単であり、複数回の施行が可能であることが利点だが、欠点としては脂肪壊死による硬結、嚢胞形成、繊維化、さらに術後の吸収が予測し難いことが挙げられる。

一般に脂肪移植の吸収率は20~50%と報告により差があるが9)10)真皮付加脂肪移植の方が脂肪移植単体よりも生着がよいとされる。これは内に豊富な血管網をもつ真皮が移植母床内で生着することで血行が再開し、なおかつ真皮下血管網を介して脂肪が栄養されるために脂肪移植より有利とされているからである。11)

しかしその一方で脂肪への血行は脂肪単体移植における生着過程と同様で移植脂肪の周囲からの血行再生のみで、生着がよいのは単に真皮層を残すことで脂肪への物理的な傷害が起こりにくいからとの説もある。

このように生着過程ははっきりしていないが、いずれにせよ術後の吸収を最小限にするためには移植片の採取においてatraumaticな操作が重要となる。

また移植母床の状態も極めて重要な因子であり、移植床の操作において組織のダメージを減らし、止血を完全に丁寧に行うことが術後の成績向上に寄与する。瘢痕が強く母床の血行が悪いとどうしても生着は不安定で移植後の吸収率は高くなり、時にそのほとんどが吸収されることも経験する。

そこで、技術や状態によらず移植した脂肪片の吸収率を少しでも下げることにはできないか、と考え被包型移植片を作成し、それを移植することを考案した。被包するものは、人工物や自家組織を検討したが、感染、血行を考慮して自家組

織に被包することとした。

3. 研究の方法

ペントバルビタール腹腔内投与により麻酔したマウスを用いる。まず、その大腿から大腿筋膜を約 1cm×1cm 採取する。それと同時に鼠蹊部に存在する脂肪を摘出する。採取部位は縫合閉鎖する。採取した脂肪を、採取した大腿筋膜で被包する。マウスの頭頂部を切開し、骨膜を展開する。骨膜上に被包した脂肪片を移植し創部を閉鎖する。

一方、コントロール群として同様にペントバルビタール腹腔内投与により麻酔したマウスを用いる。同様に鼠蹊部から脂肪を採取する。マウスの頭頂部を切開、骨膜を展開し、採取した脂肪をそのまま骨膜上に移植する。創部は閉鎖する。

一定時期の経過を待って、マウスを安楽死し、被包型脂肪移植群、コントロール群から移植脂肪をとりだす。その切片を HE 染色し、脂肪細胞の生着率の差を検討する。

4. 研究成果

まず被包型脂肪移植群の実験から開始した。しかし、被包型脂肪移植に伴う感染が起こってしまったことによるものか、原因ははっきりしないが、移植マウスが死亡してしまい、実験がなかなか進行しなかった。また、再度移植を試みたマウスでは移植期間の経過の長さから、筋膜がやぶれてしまったことから、移植脂肪片が存在せず、摘出検討することができなかった。再度行った実験では、被包型移植脂肪をとりだすことに成功した。

続いてコントロール群のマウスの実験にとりかかった。しかし、マウスが今回の実験とは明らかに関係ないと思われる疾患から死亡し、現在コントロール群の脂肪はまだ摘出できていない。

今後は、現在移植してあるコントロール群の移植脂肪を摘出し、比較検討していく予定である。

引用文献

- 1) Yoshimura K, Suga H, Eto H: Adipose-derived stem/progenitor cells; Roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. Regen Med 4: 265-273, 2009
- 2) Eto H, Suga H, Matsumoto D, et

al: Characterization of adipose tissue structure and cellular components; Differences between aspirated adipose tissue and excised adipose tissue. Plast Reconstr Surg 124: 1087-1097, 2009

- 3) Spalding KL, Arner E, Westermark PO, et al: Dynamics of fat cells turnover in humans. Nature 453: 783-787, 2008
- 4) Suga H, Eto H, Shigeura T, et al: FGF-2-induced HGF secretion by adipose-derived stromal cells inhibits post-injury fibrogenesis through a JNK-dependent mechanism. Stem cells 27: 238-249, 2009
- 5) Eto H, Kato H, Suga H, et al: The fate of adipocytes after nonvascularised fat grafting; Evidence of early death and replacement of adipocytes. Plast Reconstr Surg 129: 1081-1092, 2012
- 6) Yoshimura K et al.: In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. Regen Med 6: 33-41. 2011
- 7) Suga, H., et al.: Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells. Plast Reconstr Surg. 126: 1911-1923, 2010
- 8) Figs, F.A.: Depression of frontal region, fat transplanted. Surg Clin N Amer. 11: 8-31, 1931
- 9) Peer, L.A.: Loss of weight and volume in human fat grafts with postulation of a cell survival theory. Plast Reconstr Surg. 5: 217-230, 1950
- 10) Gurney, C.E.: Experimental Study of behavior of free fat graft. Surgery 3: 680-692, 1938
- 11) Sawney, C.P., et al.: Behavior of dermal fat transplants. Br J Plast Surg. 22: 169-176. 1969

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

吉田 行貴、被包型脂肪移植モデルを用いた効果的な遊離脂肪移植法、第24回日本形成外科学会基礎学術集会、2015年10月

8日-9日(発表確定) 岩手県民会館、岩手県

〔その他〕

ホームページ等

http://www.kochi-ms.ac.jp/~fm_srgr2/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 行貴 (YOSHIDA, Yuki taka)

高知大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：90436402