

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 28 日現在

機関番号：85505

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861688

研究課題名(和文) Induced Membrane法の脂肪移植での臨床応用に向けた基礎的研究

研究課題名(英文) Basic study of the fat graft by the Induced Membrane method

研究代表者

中桐 僚子 (NAKAGIRI, RYOKO)

独立行政法人国立病院機構岩国医療センター(臨床研究部)・その他部局等・その他

研究者番号：10633753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪移植の生着率向上のため、骨移植におけるinduced membrane法の応用を検討した。induced membraneを作成し、組織学的検討を行ったところ、VEGFが優位に発現していることが確認された。induced membrane内に脂肪移植を行うことにより、血流のある組織から距離がある部分までの生着が確認され、induced membrane法により、脂肪の生着率が向上する可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We thought the induced membrane method increases survival fat graft. The method is used in the bone graft. We made the induced membrane, and evaluate it histologically. VEGF appeared more than control. The fat graft by the induced membrane method could survive more thicker. We suggest induced membrane method makes the fat graft more survival.

研究分野：形成外科

キーワード：induced membrane法 脂肪移植 VEGF

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 組織欠損後の陥凹変形に対する再建術として、有茎皮弁術、血管柄付き遊離複合組織移植術、遊離脂肪移植術などが行われている。しかしながら、有茎皮弁術、血管柄付き遊離複合組織移植術は手技が煩雑で、患者に対する負担も非常に大きくなる。一方、遊離脂肪移植術は生着率は約 50%程度と言われており部位による差も大きいいため、治療成績は不安定である。そのため、これらの治療法に代わる簡便で低侵襲な治療法が必要とされている。

(2) 整形外科領域での遊離骨移植に関する研究で induced membrane 法は低侵襲で簡便な骨再生促進法として近年注目されている。この方法を遊離脂肪移植術に応用することで、移植脂肪の生着率向上、脂肪再生を促進させることが可能となるのではないかと考えられた。

## 2. 研究の目的

Induced membrane 法により、脂肪生着率向上、脂肪再生の促進が行われるかを確認する。

## 3. 研究の方法

### (1) ラットでの induced membrane の作成

ラット(8週齢:Wistar)の皮膚を切開し、皮下を剥離してシリコン製のインプラントを埋入する。インプラント埋入後、切開部を縫合しインプラントを留置する。この埋入・留置によりインプラント周囲に induced membrane を作成する。このときコントロールとして対側の皮下は剥離のみ施行しておく。埋入部位は背部、腹部とした。埋入後、2週、4週の時点でインプラントとその周囲の組織を摘出した。コントロールでは剥離部周囲の組織を摘出した。

### (2) 組織学的形態評価

ホルマリン固定した組織のヘマトキシリン・エオジン染色を行い組織学的に評価した。また免疫染色を行い VEGF、PPAR- の発現を確認した。

### (3) ラットの induced membrane 内への脂肪移植

ラット(8週齢:Wistar)の背部皮下にシリコンを2週間留置し作成した induced membrane

内に脂肪移植を行う。移植する脂肪組織はラット鼠径部より採取する。コントロールとして剥離のみしたラットの背部皮下にも同様に鼠径部の脂肪組織を移植する。移植した脂肪組織は2週間後に摘出しヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的検討を行った。またペリリピン染色を行い死んだ脂肪細胞と生きた脂肪細胞を明確に区別し脂肪生着率を解析した。

## 4. 研究成果

(1) 腹部、背部ともにラット皮下にシリコン製のインプラントを埋入することにより、インプラント周囲に induced membrane が作成されることを確認した。剥離のみのコントロールでは induced membrane は作成されなかった。

### (2) 組織学的評価

インプラント埋入後、2週後、4週後の induced membrane、コントロールをそれぞれヘマトキシリン・エオジン染色した。(図1、2)

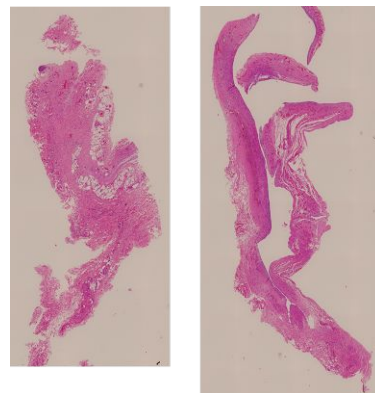


図1 インプラント埋入2週間後  
左：コントロール、右：induced membrane

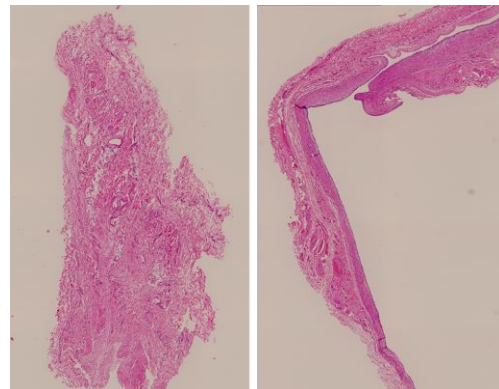


図2 インプラント埋入4週間後  
左：コントロール、右：induced membrane

コントロールと比較し induced membrane で血管が密に増生していた。2 週と 4 週では有意差は認めなかった。

と同様に 2 週後、4 週後の induced membrane、コントロールをそれぞれ、VEGF、PPAR- で免疫染色した。VEGF は induced membrane、コントロールともに発現を認めたが induced membrane で優位な発現を認めた。(図 3)

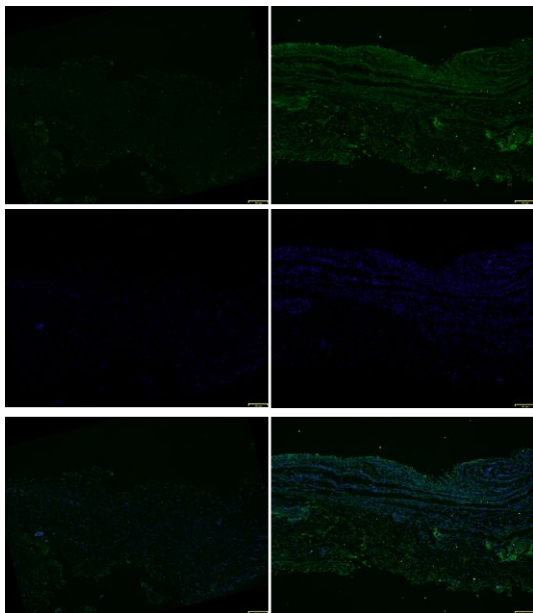


図 3 VEGF による免疫染色  
左：コントロール、右：induced membrane  
上段：VEGF、中段：DAPI、下段：VEGF + DAPI

PPAR- はコントロール、induced membrane ともにほとんど発現を認めず、2 群間に有意差はなかった。

ヘマトキシリン・エオジン染色と VEGF の免疫染色の所見より、induced membrane 周囲には血管が密に増生するため、脂肪の生着率が向上する可能性が示唆された。

### (3)脂肪移植

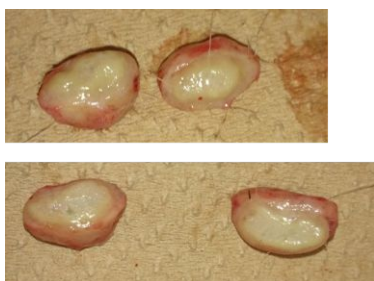


図 4 移植術後 2 週で摘出した脂肪  
上段：コントロール、下段：induced membrane

シリコンインプラント留置後 2 週でインプラントを摘出し、induced membrane 内に鼠径

部・腹部から採取した脂肪を移植した。移植した脂肪は移植後 2 週で摘出し、ヘマトキシリン・エオジン染色、ペリリピン染色をした。ヘマトキシリン・エオジン染色では、コントロールで特に白血球の増生を認め、コントロールの方が脂肪壊死が広範囲である可能性が考えられた。(図 5)

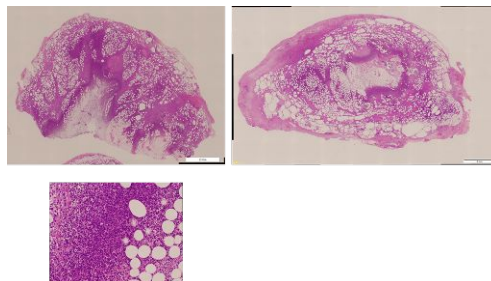


図 5 移植後 2 週の脂肪  
ヘマトキシリン・エオジン染色  
左上：コントロール  
右上：induced membrane  
下：コントロールの強拡大(400 倍)

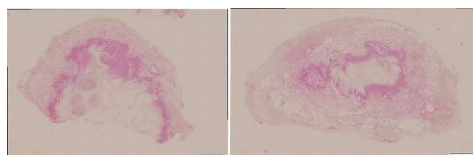


図 6 移植後 2 週の脂肪  
ペリリピン染色(酵素抗体法)  
左：コントロール、右：induced membrane

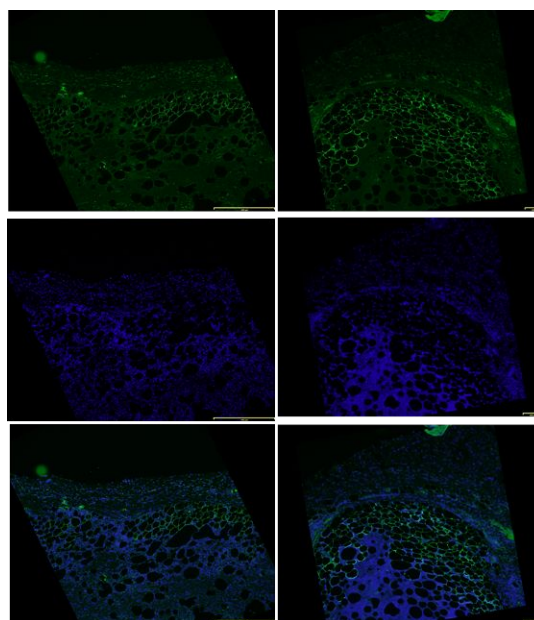


図 7 ペリリピン染色(蛍光抗体法)  
左：コントロール、右：induced membrane  
上段：ペリリピン、中段：DAPI、下段：ペリリピン + DAPI  
ペリリピンの免疫染色では、コントロール、induced membrane ともに、生着率が少なく、

全体的に見ると有意差はなかった。しかしながら、コントロールと比較し、induced membraneの方がより内側まで厚い範囲で脂肪組織が生きていることが確認できた。(図6、7)

このことより、移植脂肪は外側より生着していき、induced membraneではコントロールよりもより内側の脂肪組織も生着させることができる可能性が示唆された。今回の実験では脂肪全体の生着率が悪く、あまり有意差を認めることはできなかったが、脂肪幹細胞移植等の生着率がよりよい条件で実験を施行すれば、コントロールと induced membraneの有意差はもっと明らかになる可能性が十分に考えられた。

#### 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 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

中桐 僚子 (NAKAGIRI Ryoko)

国立病院機構岩国医療センター 形成外科医師

研究者番号：10633753

##### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3)連携研究者

( )

研究者番号：