

顔面変性疾患に対する脂肪注入法

吉村浩太郎

東京大学大学院医学系研究科 形成外科

1. はじめに

顔面変性疾患(顔面脂肪萎縮症)として、Parry-Romberg 症候群(hemifacial progressive atrophy or idiopathic hemifacial atrophy)、深在性エリテマトーデス、強皮症、HIV 感染に伴う脂肪萎縮などが知られている。これらの陥凹変形は、遺伝的もしくは後天的な疾患に伴う外見上の問題から社会的な不利益を抱えるため、整容的な治療が必要とされる。その修復には、遊離皮弁移植による組織増大治療が標準とされてきたが¹⁾、近年では脂肪移植による治療の試みも行われている^{2,3)}。

脂肪注入移植法は生着や確実性に問題があるとされてきたが、採取部や移植部に癒痕を残さない、自家組織のため異物に伴う後遺症がない、皮弁移植に比べて形態形成の自由度が高い、侵襲が小さい手術である、などの利点があり、とくに美容的観点からは優れた治療法である。採取・前処理・移植技術などの改良により脂肪移植の有効性が高くなり⁴⁾、脂肪移植術の施行数は近年は増加の一途をたどっており、米国では顔面などに対して年間約7万件施行されている(10年間で7倍に増加:米国 ASPS 統計)。

近年、脂肪組織の前駆細胞(間質血管細胞 stromal-vascular cell、脂肪間質細胞 adipose stromal cell)には多分化能を持つ細胞が含まれていることが指摘され⁵⁾、脂肪由来幹細胞(adipose-derived stem cell: 以下 ASC)とも呼ばれるようになった⁶⁾。脂肪組織は大量に(>500ml)採取することが可能であるため、骨髄に代わる新たな成人幹細胞源として注目されている。われわれはこの ASC を補助的に利用して、従来の脂肪移植法を改良した新しい治療法(Cell-Assisted Lipotransfer: CAL)を考案した⁷⁾。本稿では、顔面変性疾患に対する治療として、従来の脂肪注入法もしくは CAL による組織増大治療を行った初期臨床研究の結果を報告する。

2. 脂肪組織の構成

脂肪細胞は lipid を含有した巨大な単核細胞で、その大きさは大きいものでは120-140ミクロンにも及ぶが、肥満が進行してもそれ以上は大きくならず、細胞数が増えることにより体積を増やすことが知られている。脂肪組織はその体積の90%以上を脂肪細胞が占めているが、細胞数で見ると50-60%を占めるに過ぎず、毛細血管を構成する血管内皮細胞や周細胞、脂肪間質細胞(前駆細胞、ASC)などが数多く存在する(図1)⁸⁾。結合組織には大きな血管やリンパ管が存在し、細胞外基質の主要構成物として数種のコラーゲン、ラミニン、フィブロネクインなどが知られている⁹⁾。すべての脂肪細胞は毛細血管と直接接して存在しており²⁵⁾、実際には非常に血行(毛細血管)に富んだ組織であり、一方で阻血に弱い組織である。

3. 脂肪由来細胞群(SVF)とは

脂肪吸引で採取される吸引物は、吸引瓶の中で二層に分離される。上層は、浮遊する吸引脂

肪からなり、下層は吸引廃液である。この吸引廃液は、Tumescent 液(生理食塩水、リドカイン、アドレナリンなど)、末梢血、組織破砕小片などからなる。この上層(吸引脂肪)、および下層(吸引廃液)の双方から酵素処理により間質血管細胞群(stromal vascular fraction [SVF]: 成熟脂肪細胞は除かれている)を採取することができる(図2)¹⁰⁾。脂肪細胞は酵素処理によりすべて破壊される。この細胞群は、血液由来細胞(白血球など)が半数程度を占め、残りはASCをはじめ、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞など脂肪組織由来細胞である(図3:Fluorescent activated cell sorting、以下 FACS、で分析した SVF の細胞構成)。ASC は体内で血管内皮細胞に分化することも明らかとなり、生理的には脂肪と血管、双方の前駆細胞であると考え始められている¹¹⁾。

4. 吸引した脂肪組織とは

吸引脂肪組織は細い金属カニューレで吸引されるため、大きな血管・神経や結合組織が正常脂肪組織に比べて少ない(図4)⁷⁾。われわれの研究では、吸引脂肪から ASC を採取すると、正常脂肪組織から採取した場合の半分程度(56±12%, n=4)の数しか回収できなかった⁷⁾(さらに組織学的にも CD34 陽性 vWF(von Willebrand factor)陰性 ASC は血管平滑筋の周囲に高密度に存在することを確認した、未発表データ)。吸引脂肪組織に ASC が少ないことは、上記の大血管が乏しいことに加え、機械的な破砕や内因性の酵素反応などにより、吸引手術中や吸引瓶内での保存中に ASC が廃液中に遊離されている可能性もある。吸引脂肪から ASC が遊離されることは、吸引廃液から ASC が単離される¹⁰⁾ことから明らかである。

通常の組織移植では、前駆細胞と分化細胞の比率は正常組織と同じである。たとえば、分層植皮を行う場合、その移植片には正常と同等の前駆表皮細胞(基底角化細胞)と分化細胞(分化角化細胞)が含まれており、その組織の機能と体積の維持のためにはその組織に応じた前駆細胞数が求められる¹²⁾。一般的に加齢による組織の萎縮は前駆細胞数の減少(80歳では骨髄間葉系幹細胞の数は10歳の20分の1になるとされる¹²⁾)に基づく組織ターンオーバーの不全によると考えられている。すなわち、吸引脂肪組織内に前駆細胞が不足していることが、脂肪注入移植においての低生着率や移植後の脂肪萎縮の一因になっている可能性がある。これに対し、吸引脂肪を遠心処理(~1200g)すると、吸引脂肪内の一部の脂肪細胞が破壊されるが ASC は破壊されないため、組織内の ASC/adipocyte 比を改善することができる(1200gの遠心の場合で約14%の改善)(図5)¹³⁾。

5. CAL の概念と ASC の役割

われわれは吸引脂肪の前駆細胞不足(低 ASC/adipocyte 比)を解消する目的で、別に用意した吸引脂肪から新鮮 ASC(実際には SVF)を採取して利用する治療法を考案し、Cell-Assisted Lipotransfer (CAL)と命名した^{7,14,15)}。遠心処理した吸引脂肪を生きた scaffold として利用し、新鮮 ASC をその scaffold に接着させて、ASC/adipocyte 比を改善した ASC-rich の状態で移植材料とする(図6)。

CAL における ASC の役割は以下の4つが考えられる。①ASC が成熟脂肪細胞に分化し、移植脂肪における脂肪細胞の一部を構築する。ASC は従来から脂肪前駆細胞と呼称され、成熟脂肪細胞と共培養すると脂肪細胞への分化が誘導されることが知られている¹⁶⁾。②ASC が血管内皮細胞へ分化し、急性期の血管新生に寄与する^{7,11,17,18)}。③ASC が移植直後の低酸素(阻血)状態や組織損傷により血管新生誘導因子を放出することにより、周囲からの血管新生を誘導する。

ASCは低酸素状態でVEGFやHGFなどの血管新生作用を持つ増殖因子を分泌することが知られている¹⁹⁾。また、われわれは組織損傷に伴い細胞外基質から放出されるbFGFの刺激によりJNKシグナル伝達系を介してASCからHGFが分泌され、そのHGFの作用により再生組織での線維化、癒痕形成が有意に抑えられることを明らかにした[投稿中]。④ASCが分化せず未分化なASCの状態に移植脂肪内に存在し、組織特異的前駆細胞として来たる脂肪細胞のターンオーバーに備える。脂肪組織はターンオーバーが遅い(1.5~3年)組織として知られているが²⁰⁾、移植された脂肪組織は一時的な虚血状態により虚血-再還流障害を受けるため、移植後の早い段階で組織がターンオーバーすることが予想される。この移植早期のターンオーバーにおける前駆細胞(ASC)不足が術後の移植脂肪組織の萎縮に関連しているとすれば、ASCを加えることによる萎縮抑制が期待できる。この移植脂肪の萎縮を抑える効果は複数の動物実験から示唆されている^{7,21,22)}。

6. CALの実際

《手術方法》

1) 脂肪吸引: 顔面の治療の場合、採取部は通常は腹部である(希望があれば大腿など他の部位)。超音波やパワード吸引法は行わず、一般的な脂肪吸引(500-700mmHg)により吸引脂肪量として予定注入量の2倍量を採取する。吸引カニューレは2mm以下の細いものは移植材料の採取には不向きで、内径3mm程度が望ましい。

2) ASC採取用脂肪の処理: まず始めの半分の吸引脂肪を無菌細胞処理室へ送り、酵素処理を経て脂肪部分および廃液部分よりSVFを採取する¹⁰⁾。この工程には約80分を要する。

3) 移植用脂肪の処理: 後半の脂肪は移植材料として処理する。700-1200gの遠心処理により、油分・水分・血液成分を可能な限り除去するとともに、移植脂肪の体積をコンパクトにする。移植量あたりの組織増大量は遠心など前処理によっても大きく異なる¹³⁾。

4) 脂肪注入: 処理されたSVFを遠心脂肪に加えて攪拌後、接着させ、直ちに注入に移る。室温で放置したり、機械的な処理を行うことにより脂肪細胞はどんどん破壊されていくので速やかな移植が重要である²³⁾。顔面における脂肪移植では1mlディスポシリンジを使用することが標準である。移植量が多い(100ml超)場合は2.5mlロック付ディスポシリンジを使用している。針は18Gの標準針もしくは60mm長のカテラン針を使用する。術前のデザインに応じて、移植脂肪を極微量ずつ、層々に丁寧に注入していく。

5) 術後ケア、経過: 消毒や抜糸は不要である。洗顔、シャワーは翌日から可能である。移植部のマッサージは禁ずる。

7. 臨床結果

脂肪移植治療を行った顔面変性疾患の8例のうち9カ月以上の経過観察を完了した6例について分析した。6例のうち、3例に対して従来の脂肪移植術(Non-CAL)を行い、残り3例においてCALを行った。6症例の詳細な内訳を表1に、CALを行った2例を図7、8に示す。

術後は皮下出血、腫脹が見られ1~2週間で消退する。Non-CALの場合は9カ月まで萎縮傾向が見られたが、CALにおいてはおよそ3ヶ月で萎縮が終わり安定する傾向が見られた。Non-CALにおいて原疾患の治療のためステロイド内服を行っていた1例において術後3週で移植部に波動を触れ、壊死脂肪によると思われる泥状内容を吸引排出したが、細菌培養において

は陰性であった。生着する脂肪は個人差が見られたが、有効性評価(両群盲目化後に4名の形成外科専門医による写真評価)において、CAL群の方が評価が高かった(表1)。しかし、症例数が少ないこともあり、統計的な有意差は認めなかった。脂肪壊死を認めた1例を除くすべての症例において、治療に起因すると思われる移植部の皮下の嚢胞形成、しこりは認めなかった。

8. 考察

これまで知られている脂肪移植の欠点は、すべて遊離脂肪組織の壊死に由来するものである。脂肪幹細胞を利用することにより生着率を高め、長期的な萎縮の予防が可能となれば、その意義は非常に大きい。われわれの臨床研究において、CALの一定の安全性と有効性が確認された^{14,15)}。有効性の評価については、さらに今後の定量的評価、コントロールスタディ、および長期的経過観察による評価が必要である。しかし、脂肪移植においては、力学的に脆く、阻血に弱い脂肪組織の特性を十分に理解する必要がある。そして、採取・前処理・移植のそれぞれの工程において、1つでも不適切な行為を伴えば、臨床効果を損なうことにつながることを留意すべきである。さらに、移植注入技術は熟練を要し、使用するデバイスも結果を大きく左右するといわれる。

顔面変性疾患に対して脂肪注入移植を行う場合には、原疾患の影響を考慮する必要がある。進行性の脂肪萎縮が認められる場合には進行が落ち着くまで待機することが必要であり、膠原病の諸症状の治療のためにステロイドの内服治療が必要な場合は、内服を中止できる程度まで病状の寛解を待つことができればそれが望ましい。わが国では少ないが、AIDSによる脂肪萎縮症に対しても、脂肪注入の一定の有効性が報告されている²⁾。

脂肪移植により放射線照射皮膚の血行が良くなることが示唆されており²⁴⁾、皮下脂肪は皮膚の血行を供給する重要な臓器なのかもしれない。また、韓国ではASC移植により肥厚性瘢痕の治療が試みられている。ASCは創傷刺激(bFGF刺激)でHGFを分泌することにより、瘢痕などの線維化を改善するとともに血行を改善させるのかもしれない。顔面変性疾患の中には脂肪萎縮だけでなく皮膚の変性や瘢痕化を伴うものもあり、脂肪移植は組織増大だけでなく、そのような症状に対しても有効であればその意義は非常に大きく、瘢痕、線維化、血行不良を伴う広範囲の疾患に対して応用できる可能性がある。

まとめ

CALおよびnon-CALを用いて顔面脂肪萎縮症の治療を行った3例ずつ、計6例について報告し、考察を加えた。

参考文献

- 1) Longaker MT, Siebert JW. Microvascular free-flap correction of severe hemifacial atrophy. *Plast Reconstr Surg* 96: 800-809, 1995.
- 2) Burnouf M, Buffet M, Schwarzing M, et al. Evaluation of Coleman liposuction for treatment of facial lipoatrophy in patients with human immunodeficiency virus and parameters associated with the efficiency of this technique. *Arch Dermatol* 141:1220-1224, 2005.
- 3) Domergue S, Psomas C, Yachouh J, et al. Fat microinfiltration autografting for facial restructuring in HIV patients. *J Craniomaxillofac Surg* 34: 484-488, 2006.
- 4) 吉村浩太郎 : 効果的な脂肪注入法の開発, 形成外科 51: 265-274, 2008.
- 5) Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13: 4279-4295, 2002.
- 6) Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 100: 1249-1260, 2007.
- 7) Matsumoto D, Sato K, Gonda K, et al. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 12: 3375-3382, 2006.
- 8) Suga H, Matsumoto D, Inoue K, et al. Numerical measurement of viable and non-viable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg*, in press.
- 9) Nakajima I, Muroya S, Tanabe R, Chikuni K. Extracellular matrix development during differentiation into adipocytes with a unique increase in type V and VI collagen. *Biol Cell* 94: 197-203, 2002.
- 10) Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of Freshly Isolated and Cultured Cells Derived from the Fatty and Fluid Portions of Liposuction Aspirates. *J Cell Physiol* 208: 64-76, 2006.
- 11) Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 109: 656-663, 2004.
- 12) Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 213: 341-347, 2007.
- 13) Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg* 121: 1033-1041, 2008.
- 14) Yoshimura K, Sato K, Aoi N, et al. Cell-assisted lipotransfer (CAL) for cosmetic breast augmentation -supportive use of adipose-derived stem/stromal cells-. *Aesthet Plast Surg* 32: 48-55, 2008.
- 15) Yoshimura K, Sato K, Aoi N, et al. Cell-assisted lipotransfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of adipose-derived stem cells. *Dermatol Surg*, in press.
- 16) Conside RV, Nyce MR, Morales LM, et al. Paracrine stimulation of preadipocyte-enriched cell cultures by mature adipocytes. *Am J Physiol* 270: E895-899, 1996.
- 17) Miranville A, Heeschen C, Sengenès C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by

human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 110: 349-355, 2004.

18) Cao Y, Sun Z, Liao L, et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 332: 370-379, 2005.

19) Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 109, 1292-1298, 2004.

20) Strawford A, Antelo F, Christiansen M, et al. Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in humans measured with ²H₂O. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286, E577-588, 2004.

21) Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 118(3 Suppl): 121S-128S, 2006.

22) Masuda T, Furue M, Matsuda T. Novel strategy for soft tissue augmentation based on transplantation of fragmented omentum and preadipocytes. *Tissue Eng* 10: 1672-1683, 2004.

23) Matsumoto D, Shigeura T, Sato K, et al. Influences of preservation at various temperatures on liposuction aspirates. *Plast Reconstr Surg* 120: 1510-1517, 2007.

24) Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg* 119: 1409-1422, 2007.

25) Kubik S., Kretz O. Anatomy of the lymphatic system. In Foldi's textbook of lymphology (edit by Foldi M. et al.) 2nd edition, Elsevier GmbH, Munich, Germany, 2006.

表 1. 顔面変性疾患6例のデータ

術式	Non-CAL			CAL		
	1	2	3	1	2	3
症例	1	2	3	1	2	3
性別	男性	女性	女性	男性	女性	女性
年齢 [歳]	25	42	42	35	33	48
診断	LEP	LEP	LEP	PRS	LEP	LEP
重症度	3	5	2	4	5	4
経口ステロイド	-	+	-	-	+	-
採取部	腹部	腹部	腹部	腹部	腹部	腹部
移植量[ml]	100	250(両側)	50	110	90	100
経過観察期間 [month]	10	9	9	13	9	9
有効性評価 (平均)	Fair (50.0%)	Good (68.8%)	Fair (56.3%)	Excellent (90.0%)	Good (66.3%)	Good (70.0%)
	58.3%			75.4%		
副作用、合併症	-	脂肪壊死	-	-	-	-

LEP: Lupus erythematosus profundus
 PRS: Parry-Romberg syndrome

Legends

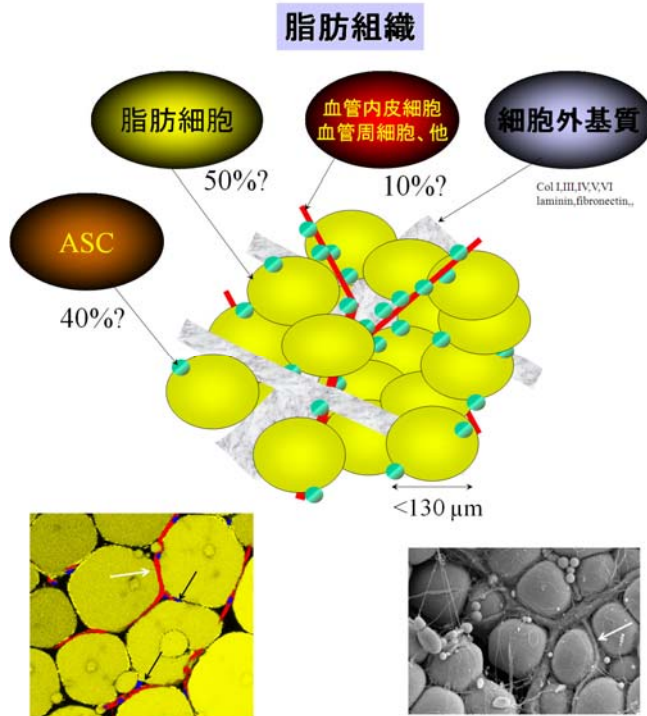


図1. ヒト正常脂肪組織の構造

(上段)ヒト脂肪組織の模式図。(下段左)ヒト脂肪組織の Whole mount 染色像。Bodipy[脂肪細胞：黄色]、lectin[血管：赤色]および DAPI[核：青色]で染色し、共焦点顕微鏡にて観察。(下段右)ヒト脂肪組織の走査顕微鏡像。

ヒト脂肪組織は脂肪細胞の間に毛細血管(白矢印)が走行しており、毛細血管はすべての脂肪細胞に接触している。脂肪細胞間、毛細血管の周囲に ASC (黒矢印) と思われる細胞が存在する。

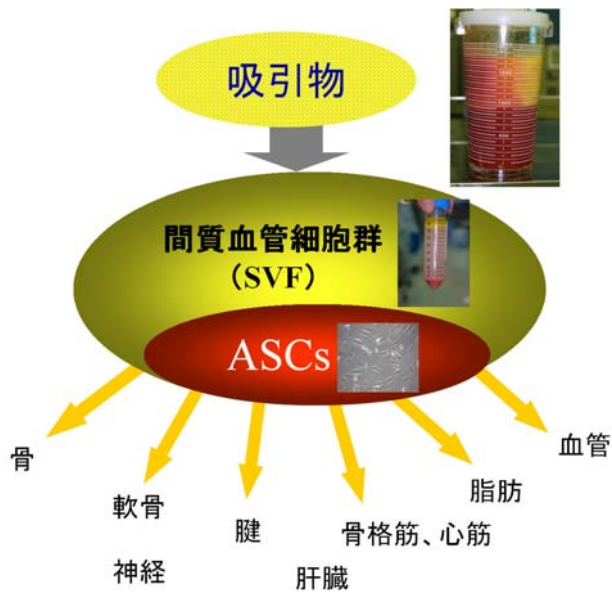


図2. 脂肪吸引回収物からの細胞の採取

脂肪吸引内容は、上層の浮遊物は破碎された吸引脂肪組織で、下層の吸引廃液は生理食塩水、血液、組織屑などの混合物である。上層、下層の双方から脂肪前駆細胞（脂肪由来幹細胞 ASC）を含む間質血管細胞群（SVF）を採取することが可能である。ASC は生理的にはおそらく脂肪細胞および血管内皮細胞の前駆細胞として脂肪組織内に存在していると考えられるが、実験的には骨、軟骨、筋肉、肝、神経など胚葉を超える多分化能を示すことが明らかにされている。

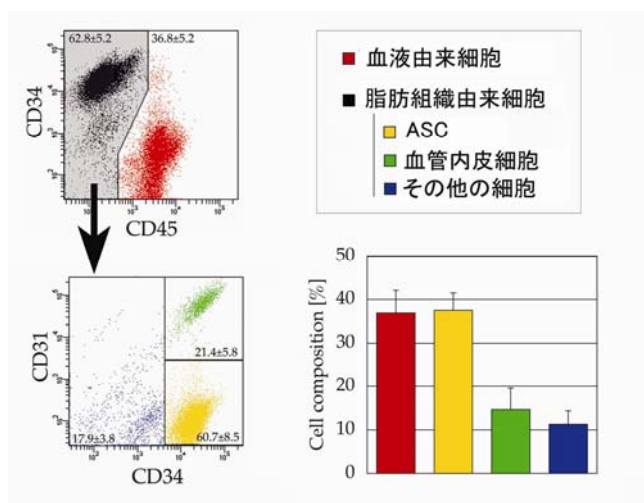


図3. 脂肪吸引による吸引物から採取した細胞群(SVF)のマルチカラーフローサイトメトリー解析

SVF は血球マーカーである CD45 により、CD45+血液由来有核細胞（主に白血球）と CD45-脂肪組織由来細胞群に分けることができる。さらに、脂肪組織由来細胞群は CD31+CD34+の血管内皮細胞、CD31-CD34+の ASC、および CD31-CD34-のその他の細胞群に分けることができる。血系由来細胞の割合は術中の出血量に左右される。

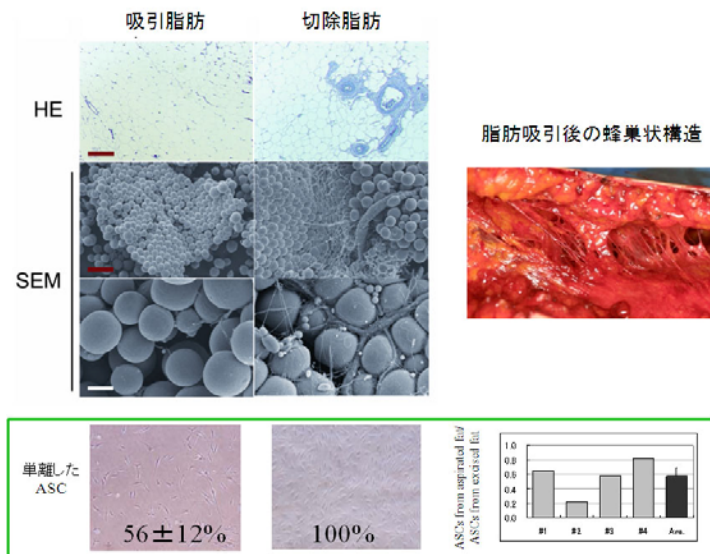


図4. 吸引脂肪組織と切除脂肪組織の形態学的比較(文献7より引用改変)

(左):ともに同一患者の腹部より採取して比較;上の段はパラフィン標本のHE染色、中段、下段は走査電顕標本の弱拡大と強拡大。Bar(赤)は200 μ m、Bar(白)は40 μ m。

基本構造はどちらもほぼ同様であるが、吸引脂肪組織には切除脂肪組織に見られるような大血管が非常に少ない(上段および中段)。吸引脂肪組織の場合は、細いカニューレにより大血管や神経を傷つけないように採取されていることによると思われる。

(右):腹部脂肪吸引後の皮下組織の様子。血管を含む索状の結合組織が蜂巢状構造物として見られる。

(下):緑枠内に吸引脂肪組織および切除脂肪組織から酵素処理により単離したASCを示す。採取されたASCの数は、吸引脂肪では切除脂肪の56%(4例の平均)であった。

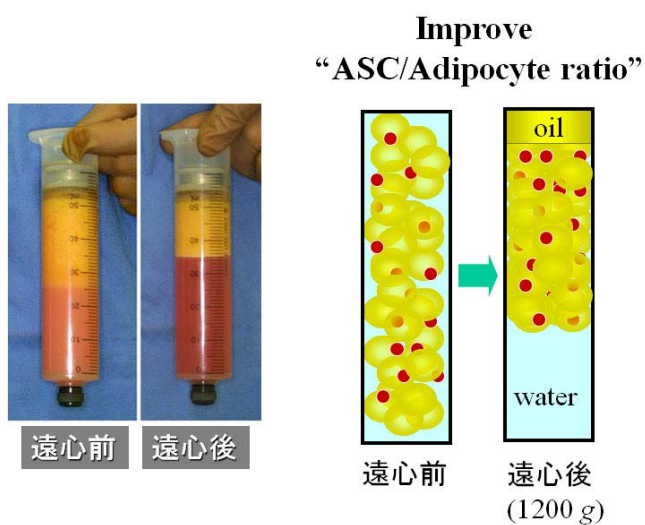


図5. 吸引脂肪の遠心処理(文献13より引用改変)

(左) 遠心処理前後の写真。

(右) 遠心処理前後の模式図。遠心によりオイル層、脂肪組織層、廃液層に分かれる。脂肪組織層は水分が分離されコンパクトになる。1200g の遠心により脂肪細胞は一部破壊されてオイル層が形成されるが、ASC はほとんどダメージを受けない。

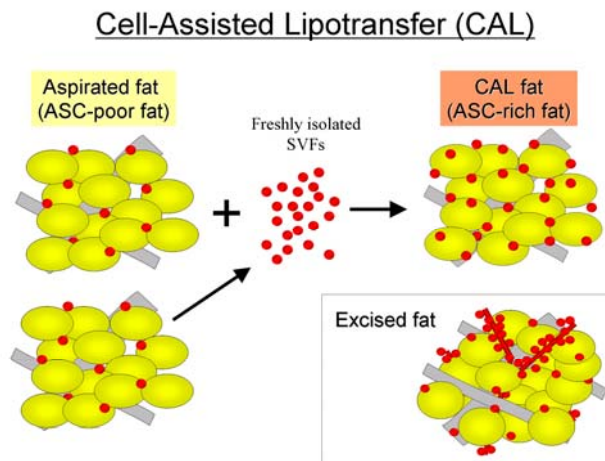


図 6 . Cell-Assisted Lipotransfer (CAL)の基本概念 (文献 1 5 より引用)

吸引脂肪は切除脂肪に比し、含まれている ASC の数が少ない。ASC が相対的に欠乏している吸引脂肪を scaffold として ASC を加えて接着させることにより、ASC-rich 脂肪として移植材料とする。



図 7 . CAL を行ったロンバーグ病による右顔面陥凹変形の症例(文献15より引用)

35 歳、アメリカ人男性、約 110ml を移植した。(上段) 術前の状態。(下段) 術後 13 ヶ月の

状態。移植脂肪は自然な形態、質感を実現し、十分な増大効果が維持されている。顔面に手術痕は見られない。



図 8. CAL を行った深在性エリテマトーデスによる右顔面陥凹変形の症例（文献15より引用）

48 歳、中国人女性、約 100ml を移植した。（上段）術前の状態。（下段）術後 9 ヶ月の状態。移植脂肪は自然な質感、形態を実現し、シコリなどを認めない。顔面に手術痕は見られない。

表 1. 脂肪移植治療を行った顔面変性疾患の 6 例のデータ（文献15より引用改変）