

II. D. 5

脂肪組織由来間葉系幹細胞

吉村浩太郎

東京大学大学院医学系研究科 形成外科

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学大学院医学系研究科形成外科

吉村浩太郎

TEL:03-5800-8948

FAX:03-5800-8947

E-mail:yoshimura-pla@h.u-tokyo.ac.jp

I. はじめに

全世界で毎年100万件を超えると言われる痩身目的の脂肪吸引術において廃棄される皮下脂肪組織は、骨髄に代わる再生医療の新たな細胞源として近年注目を浴びるようになった。従来は脂肪間質細胞(adipose stromal cell、間質血管細胞 stromal-vascular cellとも呼ばれる)、脂肪前駆細胞(preadipocytes, adipose progenitor cells)などと呼ばれていた線維芽細胞様細胞の中には、脂肪細胞や血管のみならず多様な lineage への分化能を有する細胞が存在することが指摘され[1]、脂肪由来幹細胞(adipose-derived stem cell: ASC、ADSCなどと略される)、脂肪組織由来間葉系幹細胞(adipose tissue-derived mesenchymal stem cell: AT-MSC、AD-MSCなどと略される)などと呼ばれている。皮下脂肪組織は大量に(> 1L)採取することが可能であり、採取細胞中の多分化能を持つ細胞の割合が高いこと、大量培養も容易であること、骨髄由来間葉系幹細胞とほぼ同等の機能を持っていること、などから、骨髄に代わる新たな組織幹細胞源として注目されている。

II. 脂肪組織の構造およびその細胞成分

脂肪組織は体積の90%以上を脂肪細胞が占めるが、他の細胞成分も豊富であり、組織内の細胞数で見ると脂肪細胞は半分未満であると予測される(図1)。すべての脂肪細胞は毛細血管と直接接して栄養を受けていると言われており、脂肪組織は非常に毛細血管に富んだ組織で、脂肪の新生、増生には必ず血管新生を伴うことが知られている。

脂肪組織を酵素処理することにより、脂肪細胞以外の細胞群である間質血管細胞群(stromal vascular fraction [以下 SVF])を分離することができる(図1)。この SVF の中で、脂肪由来幹細胞を含む間質細胞群を総称して、脂肪(組織由来)間質細胞(Adipose-derived stromal cells、adipose stromal cells: 以下 ASC)と呼ぶ。SVF は、末梢血由来の細胞群(マクロファージ、好中球など)が有核細胞の半数程度を占め(割合は混合する血液の量に左右される)、残りは脂肪間質細胞をはじめ、血管内皮細胞、血管壁細胞など脂肪組織由来の細胞群である(図2、3)。

III. 脂肪吸引によって得られる吸引脂肪組織

脂肪吸引手術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、浮遊する吸引脂肪組織からなり、下層は吸引廃液である(図2)。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。吸引された破砕脂肪組織は正常脂肪組織に比べて、大きな血管や細胞外基質が少ない。これは細い金属カニューレを通して、陰圧によって柔らかい部分だけが吸引されるためである。吸引脂肪組織から ASC を採取してみると、正常脂肪組織から採取した場合の半数程度の数しか回収できない。

IV. 脂肪組織由来間質細胞(ASC)の特徴

1) 培養法: ASC は接着細胞であり、DMEM や DMEM/F12 などの培地で容易に培養が可能である。血管内皮細胞用の培地なども使われる。bFGF や PDGF 添加によって細胞増殖が促進されることが知られている。

2) 表面抗原発現: ASC は新鮮な状態では CD31(-)CD34(+)-CD45(-)CD90(+)-CD105(-)CD146(-)細胞であり、培養すると CD105 を強く発現する[2]。間葉系幹細胞(MSC)や皮膚由来線維芽細胞(DF)と形態的には酷似しているが、表面抗原発現での一番大きな違いは培養 ASC で

は CD34、CD105 の発現が多く見られることである[2]。ヒト吸引脂肪組織から回収した SVF の細胞構成を図3に示す。

3) 局在: CD31(-)CD34(+)細胞の局在から、ASC は毛細血管に随伴して脂肪細胞間に存在していると同時に、大きな血管の周囲(外膜内)に局在していると考えられる。特に後者に高密度に存在している。脂肪細胞間では毛細血管に隣接して局在する所見などから、ASCは血管周細胞として存在、機能しているとの見解も近年複数報告されている[3]。

4) 機能: 生理的には脂肪組織特有の前駆細胞として、脂肪組織の増生、ターンオーバーや傷害に伴う組織修復を担い、脂肪細胞や血管内皮細胞などに分化すると考えられている。また、脂肪組織から分泌される炎症性サイトカインやアディポカインの多く(レプチンは除く)は脂肪細胞以外の細胞から分泌されており、ASC が重要な役割を果たしている可能性が高い[4]。ASC には多分化能を持つ幹細胞が含まれており、脂肪、血管、骨、軟骨、骨格筋、心筋のほか、神経や肝臓など胚葉を超えた多能性が示されているとともに、最近では hemangioblast の性質を持つ細胞の存在も指摘されている。低酸素刺激により VEGF や HGF の分泌促進、EGF や bFGF 刺激による HGF 分泌促進が見られ、肥満に伴う阻血や炎症においても、ASC が複雑な機能を果たしていることが示唆されている。

5) 前臨床研究における用途、有用性

これまでに、下肢や皮膚などの阻血組織の血行改善(血管新生誘導)、脂肪組織の新生・再生・組織増大、骨組織の再生、骨格筋再生(ジストロフィー筋など)、心筋再生(梗塞モデルなど)、瘢痕や線維化改善(HGF を介して)、などにおいて有効性が示唆されている。投与方法は様々であるが、scaffold を使用しない細胞治療の形態を取るものも多く見られる。

6) 臨床応用

これまでに、脂肪組織増大治療(豊胸や乳がん再建、顔面脂肪委縮症などの治療)、クローン病に伴う直腸膀胱瘻などの治療における血管新生促進、難治性潰瘍治療、骨欠損修復促進、GVHD に対する治療、心筋梗塞に対する細胞投与治療、などが、試行、報告されている。

V.おわりに

最近、ASC と血管周細胞との同一性を示唆する研究結果が散見されるとともに、動脈の血管壁外膜内(平滑筋のすぐ外側)に血管新生に関わる前駆細胞の局在が報告された[5]。こうした血管随伴細胞は、多様な組織に局在する血管前駆細胞であり、またASCの本態である可能性もある。いずれにしても広範囲の臨床応用が可能な血管幹細胞が吸引脂肪組織から採取できるとすれば、その医学的意義は非常に大きい。

参考文献

- 1) Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.
- 2) 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.
- 3) Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, et al. A population of multipotent CD34-positive

adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res* 102: 77-85, 2008.

4) Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm* 74, 443–477, 2006.

5) Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, et al. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development* 133, 1543-1551, 2006.

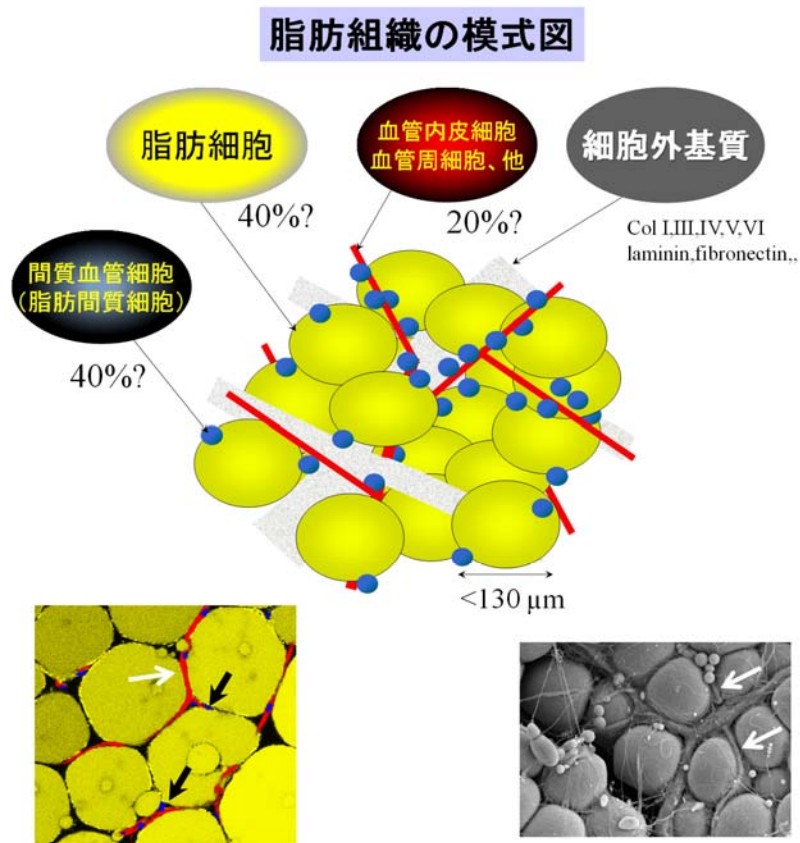


図1. ヒト正常脂肪組織の構造

(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]。(下段右)ヒト脂肪組織の走査顕微鏡像。

ヒト脂肪組織には脂肪細胞以外の細胞も数多く存在している。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、毛細血管の周囲に脂肪間質細胞(黒矢印)と思われる細胞が存在する。

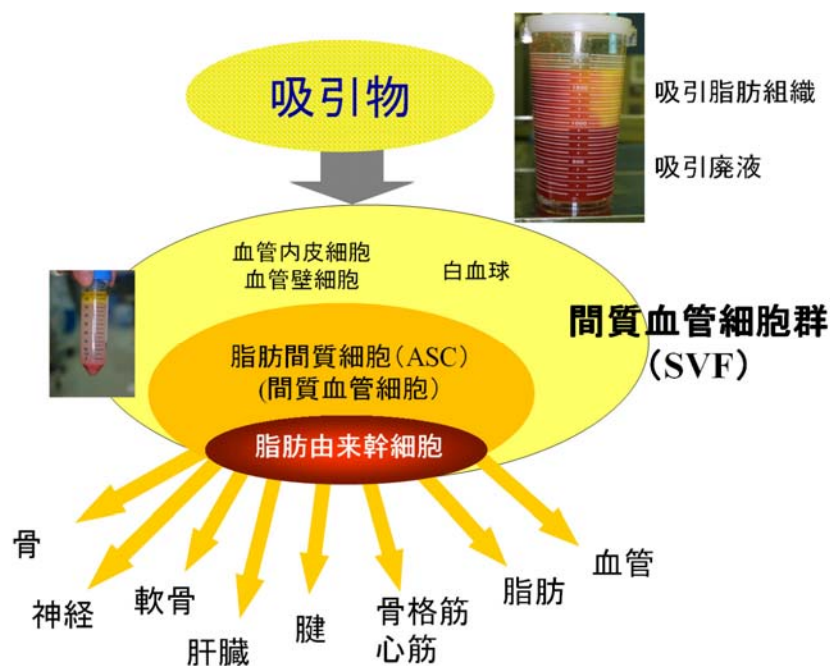


図2. 吸引脂肪組織から採取される細胞群

脂肪組織をコラゲナーゼ処理することにより回収される細胞群を間質血管細胞群 (SVF) と呼ぶ。SVF は不均一な細胞群で、血球や脂肪細胞以外の脂肪組織由来細胞群が含まれている。生理的には脂肪組織の前駆細胞として機能する脂肪間質細胞 (ASC) の中には、多分化能を持つ細胞 (脂肪由来幹細胞) が含まれている。

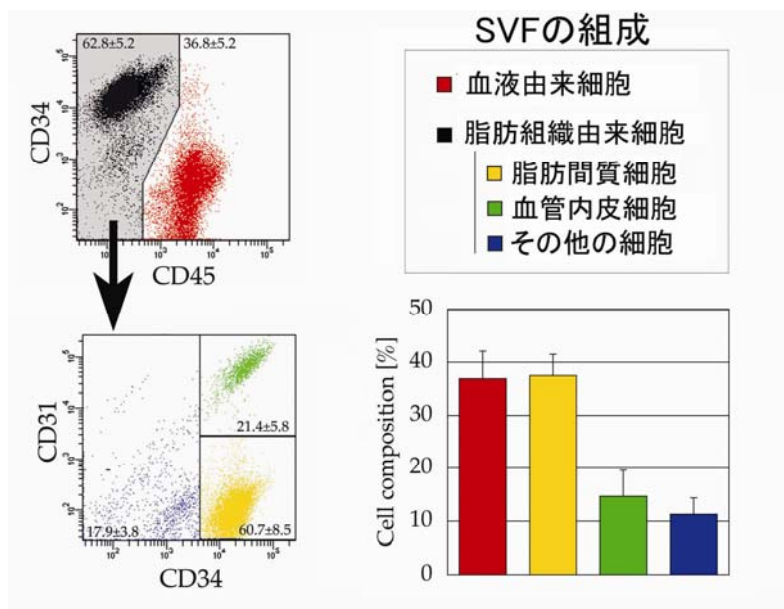


図3. 脂肪吸引組織由来細胞群 (SVF) のマルチカラーフローサイトメリー解析

吸引脂肪から採取される SVF は、脂肪由来細胞 (CD45-) と末梢血由来細胞 (CD45+) から成る。

血液由来細胞の割合は術中の出血量に左右される。CD31、CD34、CD45 の発現により、SVF

を4種類に分類できる。脂肪組織由来細胞(CD45陰性)の大半はCD34陽性であり、CD34陽性細胞はASC(CD31陰性)と血管内皮細胞(CD31陽性)に分けることができる。脂肪組織由来細胞のうち、成熟脂肪細胞は処理過程で破壊もしくは廃棄されるため、SVFには含まれない。