

再生誘導医療における脂肪組織と前駆細胞の役割

Adipose tissue and its progenitor cells: potential roles in regenerative medicine

吉村浩太郎

Kotaro Yoshimura

連絡先

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学形成外科

Department of Plastic Surgery, University of Tokyo Graduate School of Medicine,  
7-3-1, Hongo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-8655, Japan

吉村浩太郎

TEL: 03-5800-8948

FAX: 03-5800-8947

E-mail: [kotaro-yoshimura@umin.ac.jp](mailto:kotaro-yoshimura@umin.ac.jp)

キーワード: 前駆細胞、脂肪由来幹細胞 (ASC)、血管内皮細胞、間質血管細胞群 (SVF)、  
脂肪移植

## I. はじめに

脂肪吸引術において廃棄される皮下脂肪組織は、再生医療のツールそのものとして、また幹(前駆)細胞源として近年注目されるようになった。従来は脂肪間質細胞(adipose stromal cell)、脂肪前駆細胞(preadipocytes, adipose progenitor cells)などと呼称されていた線維芽細胞様細胞の中には、骨や神経など多様な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)などと呼ばれるようになった。

## II. 脂肪組織の構造と細胞成分

脂肪細胞は巨大な脂肪滴を含有した単核細胞で、大きいものでは直径 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り(大きくなると周囲からの拡散が効かなくなり死ぬ)、細胞数が増えることにより組織体積を増やす。脂肪細胞の寿命は数年から 10 年であることが指摘され、脂肪組織がゆっくりではあるが新陳代謝を繰り返していることが明らかにされた[2]。脂肪細胞は脂肪組織の体積の90%以上を占めているが、細胞数で見るとごくわずかで、血管内皮細胞や周皮細胞、脂肪間質細胞(前駆細胞、ASC)などほかの細胞が数多く存在する[3-5]。これらの脂肪細胞以外の有核細胞の集合体は間質血管細胞群(stromal vascular fraction [以下 SVF])と呼ばれ、脂肪組織を酵素処理することにより、効率よく分離することができる(図1)。

## III. 脂肪組織における ASC の機能

結合組織には大きな血管やリンパ管が存在し、すべての脂肪細胞は毛細血管の密なネットワークと直接接しており、ASC は毛細血管に周皮細胞のように張り付いて存在する。ASC は生理的には脂肪組織特有の組織前駆細胞として、脂肪組織のターンオーバーに伴う細胞死に対応して、脂肪細胞や血管内皮細胞などに分化し恒常性維持を司ると考えられている。さらに、脂肪組織の成長や増大(肥満)に際して分裂して細胞を供給したり、Brava などの機械的外力に反応して細胞を供給して、脂肪新生、血管新生をもたらす。脂肪の外傷や脂肪移植では、ASC は強く活性化され、細胞を供給するとともに数多くの増殖因子を分泌し、骨髄から動員される前駆細胞群と協調して、その創傷治癒において中心的な役割を果たす。

## IV. 臨床応用するための細胞の準備

臨床応用には脂肪組織(通常は吸引脂肪組織)をそのまま使用する、もしくは SVF を単離して使用する。脂肪組織には 1g あたり 400-500 万個の細胞が存在し、大まかに言えばそのうち 100 万個が脂肪細胞、100 万個が ASC、100 万個が内皮細胞である [5]。SVF は1gの脂肪組織をコラーゲナーゼで酵素処理することで、有核細胞数としておよそ 30~100 万個(うち ASC は 1~10 万個)が単離でき、その中には出血による白血球も含まれている。最近では吸引脂肪から SVF を単離するための自動化(半自動化)装置、手術室で使用できるマニュアル用の分離デバイスや細胞分離用クリーンベンチなどのシステムも市販されはじめている。採取法により効率が様々であるため、

SVF の生細胞数を測定して確認することが必須であり、血算用の自動血球計数器などが便利である。一方、まだ採取効率は低いがコラーゲナーゼを使わないで SVF を採取するいくつかの方法も最近開発が進んでおり、酵素を使用しない場合は minimal-manipulation とみなされ、安全性が高いため、大きな期待が寄せられている。

## V. 細胞の移植方法、移植体の種類

幹細胞には一般的に免疫寛容であるという特徴があるとされるが、その投与は自家移植として行われることが多い。しかし、治療目的によって他家移植が可能であればその利用価値は飛躍的に高まる。ASC は接着細胞であり、DMEM/F12 などの培地による接着培養で大量増殖が容易であるとともに、内皮細胞や白血球などが除外され、純化される。近年は培養 ASC も徐々に臨床使用が始められている。現在までの臨床研究では、一定の分化誘導をかけることはせずに、できるだけ未分化な状態で細胞を投与しているものが多い。SVF、ASC どちらの状態でも凍結保存が可能である。脂肪組織として凍結保存した場合は解凍時にその多くの細胞成分は死滅するが、強力な生物活性を持つその細胞外基質を無細胞真皮などのようにスキャフォードや被覆・移植材料などとして利用できる可能性はある。

細胞を懸濁液として静注する場合はその大半の細胞は肺や肝臓に捕捉されることが知られている。皮下などに局所注入してもその大半はリンパから循環に入り、リンパ腺を含め同様に捕捉される。それを避けるためには、細胞同士を接着させて(細胞シート、細胞クラスターや球状細胞塊)、もしくは細胞を組織(真皮や脂肪など)やスキャフォード(無細胞真皮などの天然細胞外基質、コラーゲンスポンジなどの人工細胞外基質、ポリ乳酸ビーズなどの吸収性物質など)に接着させて投与することが必要と思われる。

## VI. ASC の臨床応用の世界的な動向

ASC は 2002 年頃より散発的に臨床応用が試みられてきている。①骨欠損に対して骨移植を行い、同時にフィブリン糊と混合した新鮮自己 ASC を投与した例(ドイツ) [6]や、②クローン病に併発する直腸瘻や腸皮膚瘻などに対して外科的瘻孔閉鎖術もしくは切除術を行い、同時に周囲組織に新鮮自己 SVF もしくは培養自己 ASC を創傷治癒促進、再瘻孔防止を目的に投与する例(スペイン) [7]、③豊胸術や乳房再建、顔面脂肪萎縮症などに対して新鮮自己 ASC を接着させた吸引脂肪組織を移植して組織の増大を行う例(日本、欧州ほか) [8-10]、④骨髄移植後の GVHD に対して培養他家 ASC を移植した例(中国) [11]、⑤ヒアルロン酸ベースのスキャフォードに自己 ASC を播種、培養したコンストラクトを皮下に移植した例(ベルギー) [12]、⑥気管瘻に培養自己 ASC をフィブリン糊をベースに注入投与して瘻孔閉鎖を見た例(スペイン) [13]、⑦急性心筋梗塞に対する新鮮自己 ASC の投与(オランダ)、⑧前立腺切除後の緊張性尿失禁に対する治療(日本ほか)、⑨顔面骨、顎骨の再建に、新鮮自己 SVF もしくは培養自己 ASC をチタンメッシュ、 $\beta$ TCP などに播種して移植したり、皮弁と併用して充填(フィンランド)、ほかにも、肥厚性瘢痕、難治性潰瘍、肝硬変、虚

血下肢、骨盤臓器脱、特発性肺線維症などへの臨床研究も報告されている。このように、細胞単独での治療ではないことが多く、補助的な利用が多いことがうかがえる。臨床試行が多く、有効性などについては今後のさらなる研究の蓄積が期待される。

## VII. ASC を利用した脂肪組織移植

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、侵襲や自由度など優位点も多く、近年は採取・前処理・移植法などの技術的改良により脂肪移植の有効性・安全性が高くなったため、乳房への応用も徐々に一般化してきて、施行数は増加の一途をたどっている。

移植後の脂肪組織は一時的に阻血状態に置かれ、表面の一部を除くほとんどの脂肪細胞が壊死し、次世代の脂肪細胞に置換される[14]。毛細血管を含め、脂肪組織のダイナミックなリモデリングが起こるが、その過程において ASC が増殖し再生修復過程で中心的役割を果たし[15]、移植脂肪内において次世代の脂肪細胞と ASC を提供する[16](図2、3)。脂肪移植の材料とされる吸引脂肪組織は正常脂肪組織に比べて血管や ASC に乏しいため[5,17]、余分に採取した脂肪組織から分離した新鮮 SVF を添加することにより移植効果を改善する試み (Cell-assisted lipotransfer) が行われている[8-10](図4)。豊胸術等の美容手術や乳がんや顔面変性疾患の再建をはじめ、同様の治療が耳鼻科(声帯周囲)、泌尿器科(尿道括約筋周囲)領域にも応用されている。形成外科領域では多くの国で同様の臨床試行が行われているが、細かいプロトコールなどはそれぞれ相違点が多く、標準化されていないという大きな問題点がある。米国では FDA 承認下での臨床研究が頭蓋顔面領域で行われている。

## VIII. 再生医療の一手法としての脂肪移植

脂肪移植は元来組織の体積の増大を目的としているが、さらに組織の質までを変えうる再生医療の一手法として認知され始めている。その理由は、これまでの知見により、脂肪移植後に、組織の柔らかさ、血行や創傷治癒能、皮膚の色素やしなやかさなどが改善したことなどが認められたことに起因する。放射線照射後の虚血組織に脂肪移植をすることにより、従来は治癒しなかった難治性潰瘍が自然治癒することなどは、好例である。

慢性炎症や放射線など何らかの原因で組織の前駆(幹)細胞が欠乏すると、組織の恒常性が維持できず、組織は虚血となり線維化を起し硬くなる。予備能が低下し、創傷治癒は悪くなる。こうした場合に皮下に脂肪移植を行うことにより、血流が良くなり、線維化が軽減され、組織が柔らかくなり、慢性潰瘍が自然治癒するというような変化が報告されている。前駆細胞が欠乏した組織を改善する方法として、前駆細胞そのもの、もしくは前駆細胞を含んだ何らかの組織を移植することが想定され、なかでも脂肪移植術が最も簡便で、有効性の高い方法ではないかと推測される。

## IX. 今後の脂肪組織、ASC の臨床応用の方向性

すでに臨床応用されている上記の目的以外にも、四肢や皮膚などの虚血組織の血行改善(血管新生誘導)、骨格筋再生(筋ジストロフィーなど)、瘢痕や線維化改善、

放射線障害、神経再生(脊髄損傷など)、肝機能再生(肝硬変など)、ASC 細胞シートによる心機能の改善などにおいて、前臨床研究による有効性が示唆されており、臨床応用に発展する可能性があり、骨髄由来間葉系幹細胞とほぼ同等の臨床応用が想定されていると言える。

これまでは細胞を足場や組織、既存治療とある意味自然に近い状態で組み合わせる形での治療の試みが多くなされてきたが、今後は治療目的に応じて細胞に特定の刺激を加えるなど、細胞を積極的に機能させより有効性の高い治療を目指す方向性も想定される。

現在までの臨床試行において細胞の悪性変化など深刻な副作用は報告されていないが、ASC を大量の細胞浮遊液の状態で作傷部位に局所投与した場合に、投与部位およびその周囲にまで線維化を生じた例が見られる。このことは ASC のような接着細胞を非生理的な状態(懸濁液など)で投与する場合に想定外の挙動(遊走、分化、リンパ行性移動)をする可能性があることを示唆している[18]。

## X. まとめ

脂肪吸引で切除された脂肪組織は、組織増大だけでなく組織の質を改善し肥沃化する目的の自家移植材料として、あるいは貴重な組織幹細胞源として利用することができる。組織を再生させるのであれば、未分化な前駆(幹)細胞と分化した機能細胞を組み合わせる投与することが重要であり、幹細胞欠乏組織の肥沃化を目指すのであれば、幹細胞だけを移植することも理論上有効である。ASC は、間葉系前駆(幹)細胞であるとともに、血管と極めて密接な関係を持つ細胞であることが示唆されており、広範囲に臨床応用が可能な血管前駆細胞が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。一方で、標準化が難しい臨床研究ではまだ不明の点も多く、初歩的な臨床試行から発展して、今後はさらに細胞の機能を最大限に引き出す治療戦略の最適化が期待される。

## 参考文献

- 1) Zuk PA, Zhu M, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13: 4279-4295, 2002.
- 2) Spalding KL, Arner E, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 453: 783-787, 2008.
- 3) 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.
- 4) Suga H, Matsumoto D, et al. Numerical measurement of viable and non-viable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg* 122: 103-114, 2008.
- 5) 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.
- 6) Lendeckel S, Jödicke A, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg* 32: 370-373, 2004.
- 7) García-Olmo D, García-Arranz M, et al. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 48: 1416-1423, 2005.
- 8) Yoshimura K, Sato K, et al. Cell-assisted lipotransfer (CAL) for cosmetic breast augmentation -supportive use of adipose-derived stem/stromal cells-. *Aesthetic Plast Surg*, 32: 48-55, 2008.
- 9) Yoshimura K, Sato K, et al. Cell-assisted lipotransfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of adipose-derived stem cells. *Dermatol Surg* 34: 1178-1185, 2008.
- 10) Yoshimura K, Asano Y, Aoi N, et al. Progenitor-enriched adipose tissue transplantation as rescue for breast implant complications, *Breast J* 16: 169-175, 2010.
- 11) Fang B, Song Y, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as salvage therapy for treatment of severe refractory acute graft-vs.-host disease in two children. *Pediatr Transplant* 11: 814-817, 2007.
- 12) Stillaert FB, Di Bartolo C, et al. Human clinical experience with adipose precursor cells seeded on hyaluronic acid-based spongy scaffolds. *Biomaterials* 29: 3953-3959, 2008.
- 13) Alvarez PD, García-Arranz M, Georgiev-Hristov T, et al. A new bronchoscopic treatment of tracheomediastinal fistula using autologous adipose-derived stem cells. *Thorax* 63: 374-376, 2008.
- 14) Eto H, Kato H, Suga H, et al. The fate of adipocytes after non-vascularized fat grafting: Evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg*, 129: 1081-1092, 2012.

- 15) Suga H, Eto H, et al. IFATS series: 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.
- 16) Yoshimura K, Eto H, Kato H, et al. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Reg Med* 6(6 Suppl.): 33–41, 2011.
- 17) Matsumoto D, Sato K, et al. Cell-assisted lipotransfer (CAL): supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng* 12: 3375-3382, 2006.
- 18) Yoshimura K, Aoi N, Suga H, et al. Ectopic fibrogenesis induced by transplantation of adipose-derived progenitor cell suspension immediately after lipoinjection. *Transplantation* 85: 1868-1869, 2008.

## 和文抄録

脂肪吸引で切除された脂肪組織は、自家移植材料として、あるいは貴重な組織幹細胞源として利用することができる。脂肪組織に存在する前駆細胞(ASC)は、組織の恒常性維持を司るとともに、脂肪の傷害や移植時における組織修復・治癒においては骨髄由来前駆(幹)細胞とともに中心的役割を果たす。血管と極めて密接な関係を持つ細胞であり、脂肪新生や血管新生を目的とした治療ツールとして利用できることが示唆されている。脂肪組織の移植は、たんに組織の量的増大だけでなく、放射線障害組織など幹細胞欠乏状態と思われる虚血線維性組織を質的に肥沃化するための再生医療として期待される。一方で、標準化が難しい臨床研究ではまだ不明の点も多く、初歩的な臨床試行から発展して、今後はさらに細胞の機能を最大限に引き出す治療戦略の最適化が期待される。

## 英文抄録

### **Adipose tissue and its progenitor cells: potential roles in regenerative medicine**

Kotaro Yoshimura

Department of Plastic Surgery, University of Tokyo, Tokyo 113-8655

Adipose tissue gains much attention not only as autologous soft tissue filler but also as a valuable source of mesenchymal stem cells. Adipose tissue turns over very slowly and its perivascular progenitor cells (adipose stem/progenitor cells: ASCs) differentiate into adipocytes or vascular endothelial cells in the next generation. Through collagenase digestion, stromal vascular fraction containing ASCs can be obtained. ASCs play important roles in physiological turnover, hyperplasia, and atrophy of adipose tissue; as well as in incidental remodeling, such as post-injury repair. There have been many clinical trials using ASCs, such as enhancement of tissue regeneration, angiogenesis and anti-fibrosis. Careful design of microenvironment activating ASCs, cell delivery protocol to avoid unexpected behavior and induce maximal potential of ASCs, and selection of target diseases, will be critical to the success of clinical applications.



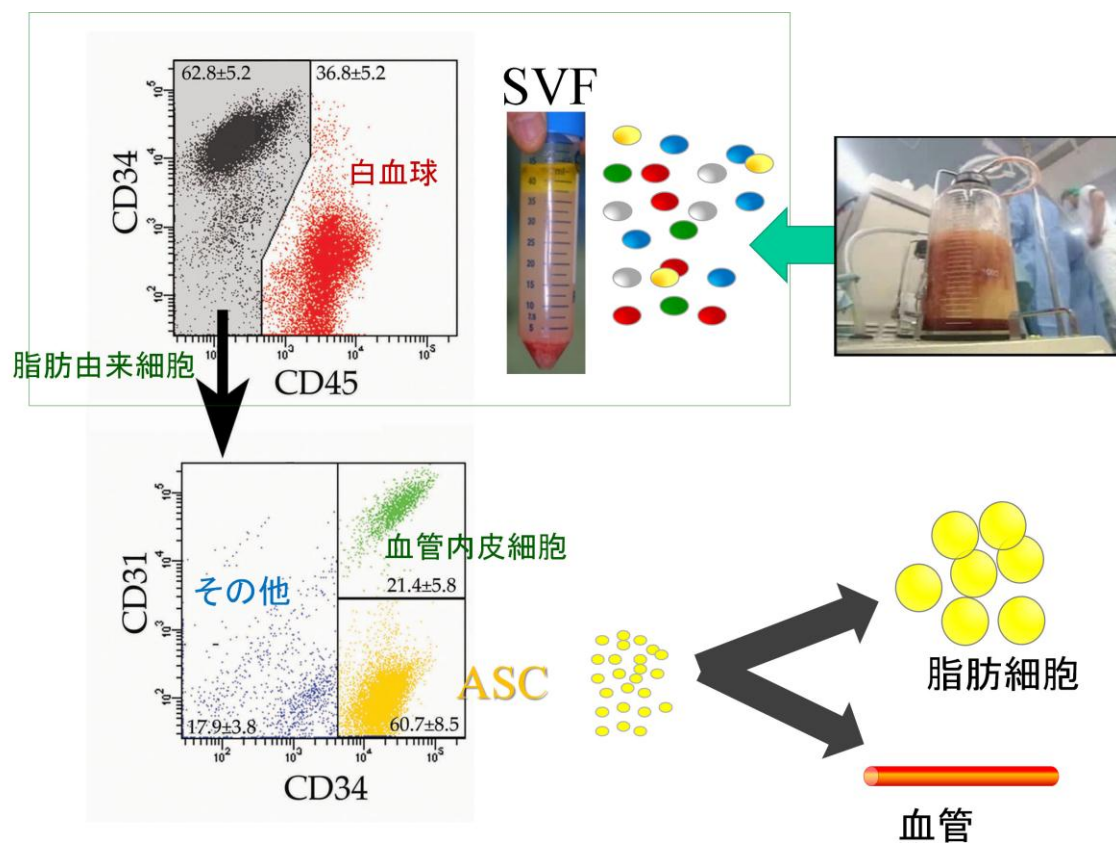


図1. 脂肪吸引組織由来細胞群 (SVF) のマルチカラーフローサイトメトリー解析

吸引脂肪から酵素処理を経て採取される 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+) の大半は CD34+ であり、CD34+ 細胞は ASC (CD31-) と血管内皮細胞 (CD31+) 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。

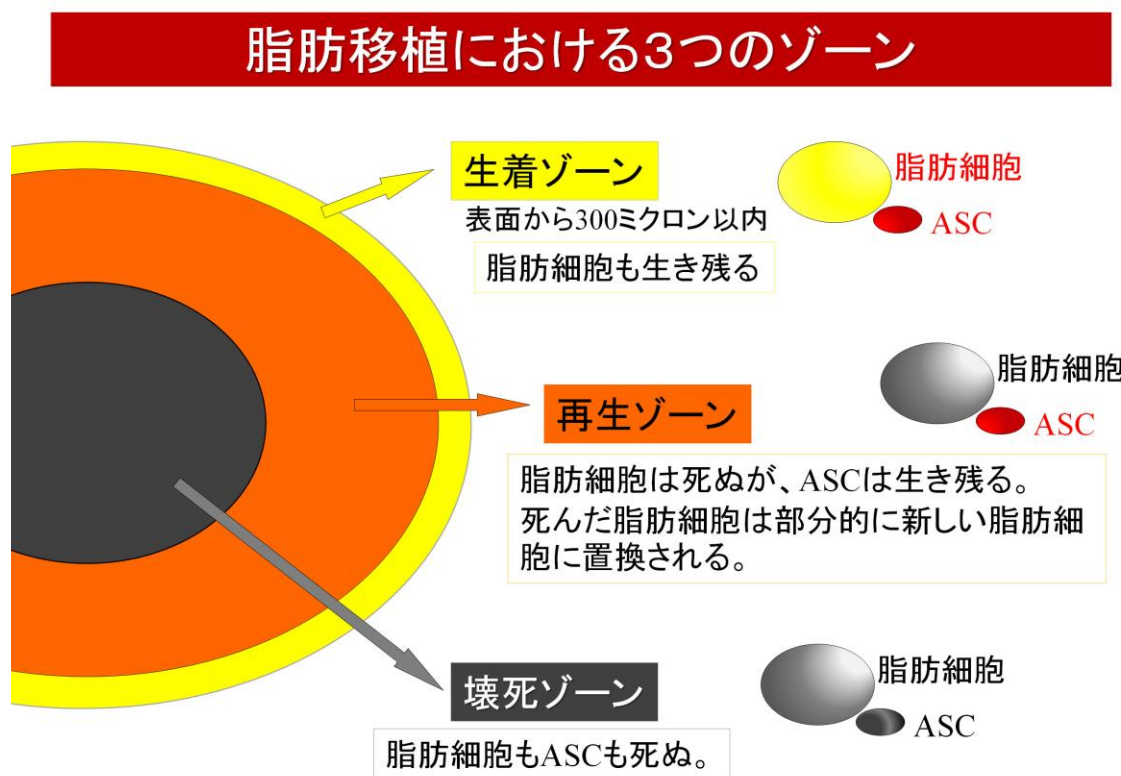


図2. 移植脂肪組織における3つの領域の模式図(文献14より転載、改変)

最外層は 300 ミクロン以内の厚さで、脂肪細胞が周囲からの拡散によって栄養され生存する領域で、中層(1 ミリ程度)は脂肪細胞は死ぬが ASC は生存できるため活性化されて再生しようとするため部分的に再生される領域である。最内層は長期にわたり拡散が効かないため ASC も死滅し壊死する領域である。すなわち、組織が大きいと壊死する領域が増える。

## 脂肪移植後の変化

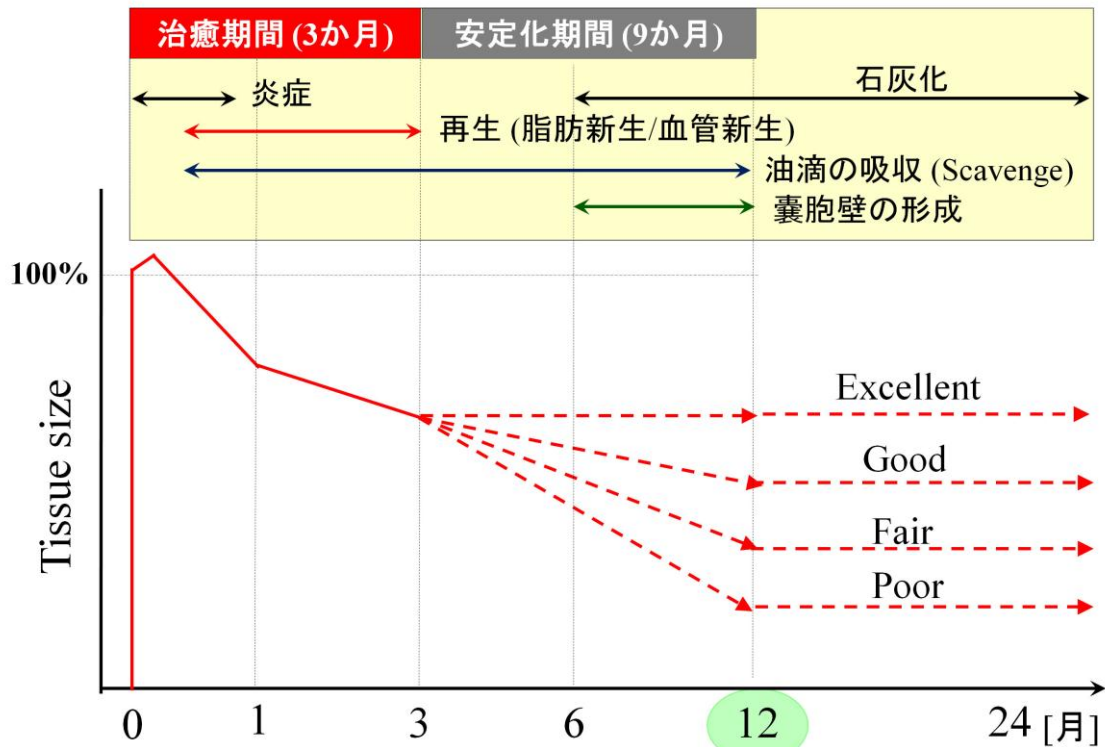


図3. 脂肪移植後の長期的経過(文献16より転載、改変)

移植脂肪組織は直後から壊死に始まりリモデリングが起きて、3 か月までに脂肪新生は終了する。壊死脂肪は油滴となって存在するが、小さければ12 か月までに吸収され、大きければ囊胞壁を形成して永久に残ることになる。3 か月から12 か月の間に壊死脂肪が吸収されることにより体積は減少し、その後は体積の変化はないが、石灰化は長期的に進行する。

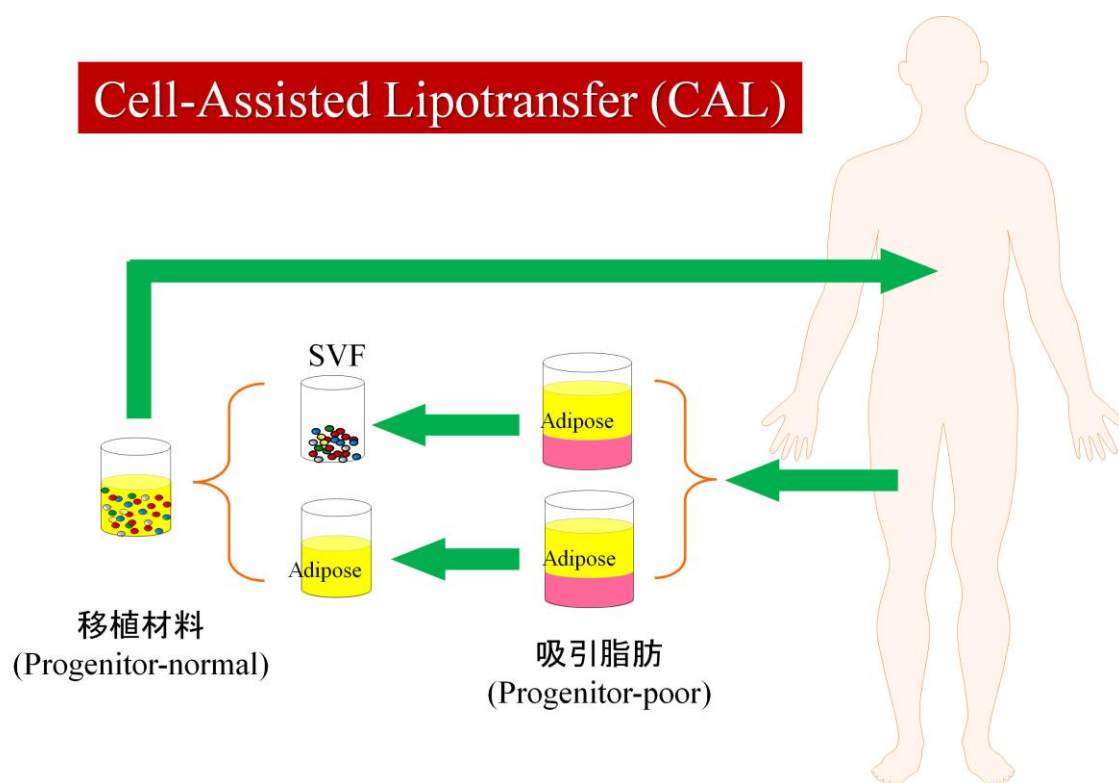


図4. Cell-Assisted Lipotransfer (CAL 法)の基本概念

吸引脂肪組織は切除脂肪組織に比し、含まれている前駆細胞(ASC)の数が少ない。前駆細胞が相対的に欠乏している吸引脂肪組織を scaffold とみなして前駆細胞を加えて接着させることにより、前駆細胞が正常程度に存在する脂肪組織として移植材料とする。実際には前駆細胞を含んだ間質血管細胞群(SVF)を加えている。確実に付着させて、細胞の挙動を制御することが重要である。