

脂肪前駆細胞の移植医療 への臨床応用

東京大学医学部附属病院形成外科・美容外科
講師

吉村浩太郎

同 形成外科・美容外科

松本 大輔

セルポートクリニック横浜 院長

佐藤克二郎

Summary

脂肪組織には、脂肪細胞の前駆細胞であるとともに、血管の前駆細胞ともいえる間質細胞が含まれている。脂肪吸引から採取される吸引脂肪は、移植材料として使用されるだけでなく、この間質細胞の採取源ともなる。吸引脂肪組織は、正常脂肪組織に比較して大血管に乏しく、前駆細胞にも乏しい。この欠点を補填するために、吸引脂肪にこの間質前駆細胞を接着させて移植する方法 (cell-assisted lipotransfer; CAL) を考案した。豊胸術や癌切除後の組織欠損などへの整容的組織増大治療に応用し、これまでの124症例において満足できる成績を得ている。

はじめに

瘦身目的の代表的美容外科手術である脂肪吸引術（全世界で毎年100万件を超える）において廃棄される吸引脂肪組織は、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が、脂肪組織を再生する需要も大きいことはあまり知られていない。脂肪組織の再生は、整容的に陥凹や変形部位の組織の体積を増やすことを目的としており、組織増大治療と呼ばれる。その治療対象は、先天性・後天性の組織欠損や変形（漏斗胸、種々の脂肪萎縮症、癌切除や外傷による組織欠損や変形）、美容的改善（豊胸、ヒップリフトなどの体形の改善、顔面の若返りなど）である。

われわれは組織増大を目的とした再生治療として、脂肪前駆細胞preadipocytes（脂肪由来間質細胞adipose-derived stem/stromal cells; ASCs）を利用して、従来の脂肪移植の欠点を改良した新しい治療法（cell-assisted lipotransfer; CAL）を考案した。

脂肪吸引によって得られる吸引脂肪 (aspirated fat, lipoaspirates)

脂肪吸引によって得られる吸引物は、脂肪部分（吸引脂

Key Words:

脂肪前駆細胞 □ 組織増大 □ 豊胸術 □ 血管新生 □ 脂肪移植

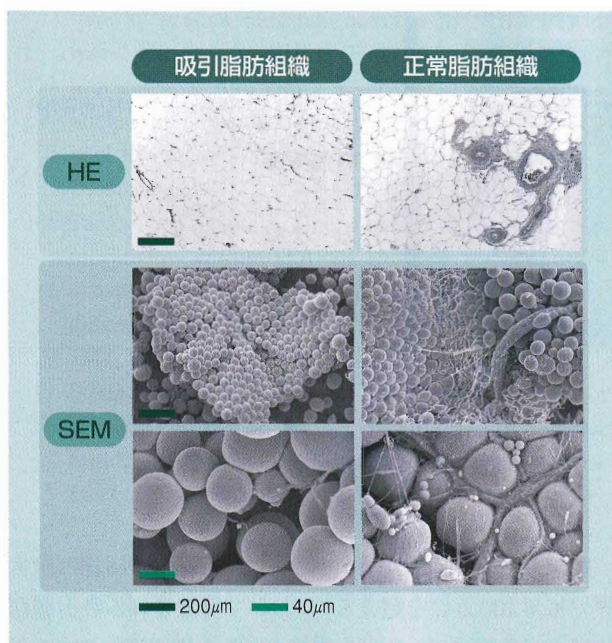


図1 吸引脂肪と切除脂肪の形態学的比較

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。基本構造はどちらもほぼ同様であるが、吸引脂肪には大血管が非常に少ない。吸引脂肪の場合は、細いカニユ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と思われる (文献1より改変引用)

肪)と廃液部分からなる。吸引脂肪は、破碎された脂肪組織からなり、廃液は血液、生理食塩水、破碎された細胞外基質部分などからなる。吸引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(図1)。脂肪吸引手術では、大きな血管や神経などは体内に残すように、生理食塩水を注入して組織を膨潤化させた後で、細い金属カニユーレを通して柔らかい部分だけが吸引されるためである。吸引脂肪からASCsを採取してみると、正常脂肪組織から採取した場合の半分程度(56±12%)の数しか回収できない¹⁾。また、脂肪吸引によって得られる廃液部分からもASCsを含む細胞群を採取することが可能である²⁾。ASCsは正常脂肪組織内において脂肪細胞間にも散在しているが、特に血管の周囲に高密度に存在している(図2)。以上のことから、吸引脂肪は、正常脂肪組織に比べて前駆細胞が不

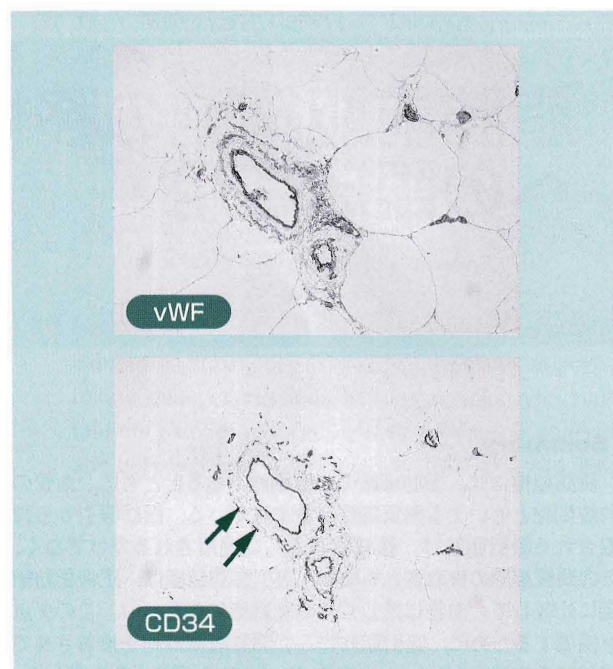


図2 脂肪組織内におけるASCsの局在

正常脂肪組織のvon Willbrand factor (vWF) (上)、CD34 (下) 免疫染色像。血管内皮細胞 (CD34陽性vWF陽性細胞) は血管の最内層と脂肪内のcapillaryにみられ、ASCs (CD34陽性vWF陰性細胞) は血管平滑筋の直外側に多数認められる(矢印)。このほか、ASCsは脂肪細胞間にも散在する

足している脂肪組織であることがわかる。吸引脂肪から酵素処理を経て得られる新鮮細胞群 (stromal vascular fraction; SVF) には、血液由来細胞とともに、種々の脂肪由来細胞群が含まれている(図3)。ASCsは新鮮状態において、CD31 (-) CD34 (+) CD45 (-) CD90 (+) CD105 (-) CD146 (-) 細胞であり、培養するとCD105 (+)と変化する²⁾。

ASCs(SVF)を用いて移植脂肪の質的改善を図る —cell-assisted lipotransfer (CAL)—

前述のごとく、吸引脂肪は正常脂肪組織に比べて含有ASCsが少ない。このことは、吸引脂肪組織の注入移植後

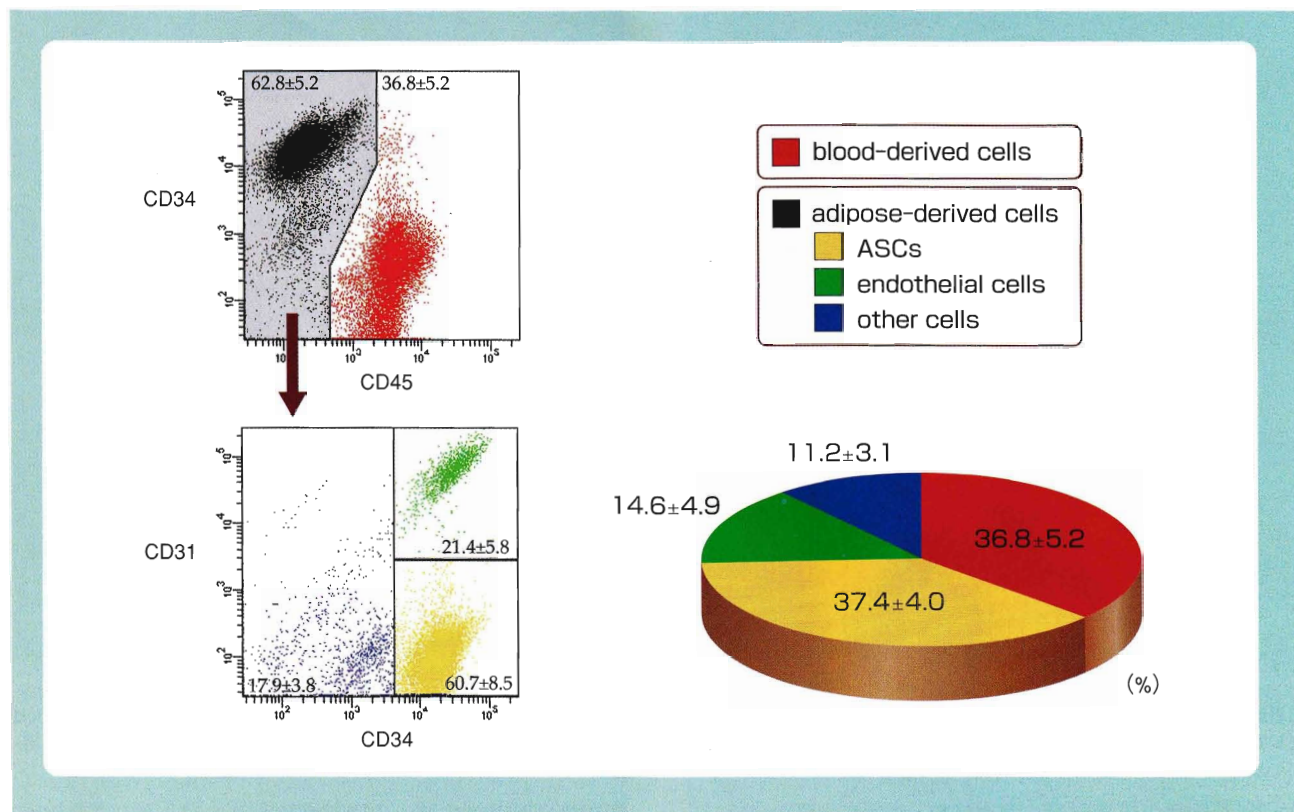


図3 吸引脂肪由来SVFのマルチカラーフローサイトメトリー解析

CD31、CD34、CD45の発現により、SVFを4種類に分類できる。脂肪由来細胞(CD45陰性)の大半はCD34陽性であり、CD34陽性細胞はASCs(CD31陰性)と血管内皮細胞(CD31陽性)に分けることができる

に移植された脂肪組織の低生着率や、移植後の脂肪萎縮の決定的な原因になっている可能性がある。脂肪注入という治療法は、血行がない遊離複合組織移植であり、移植組織の部分壊死による不確実性や移植脂肪組織の術後萎縮、偽嚢胞や石灰化の形成などが問題とされてきた。しかし、注射であるため瘢痕を残さないという美容的長所をもち、治療法がもつ欠点が解消されることの意義は非常に大きい。

CALにおいては、移植材料で欠乏したASCsを補填する目的で、換言すればASC: adipocyte比を改善する目的で、吸引脂肪をscaffoldとしてASCsを含むSVFを加えて接着させて、ASCs-rich脂肪の状態に移植する(図4)。採

取したSVFは培養せずにminimal manipulationの範囲で使用されるため安全性が高い。また、500mLの吸引脂肪組織があれば、5億から50億個の有核細胞を採取することが可能である(うち少なくとも10%はASCsである)。

動物実験では、移植脂肪はASCsを補填すると、中心部の壊死範囲が小さく、生着重量が有意に大きく、特に周辺部における新生血管の増加が認められた。移植後のASCsは本来と同じような局在(脂肪細胞間、および血管周囲の結合組織内)を示し、一部はvWF陽性の血管内皮細胞に分化していることが確認された(図5)¹⁾。

また、吸引脂肪を単に遠心処理することにより、単位体積あたりの脂肪細胞数、およびASCs数を増やすことが可

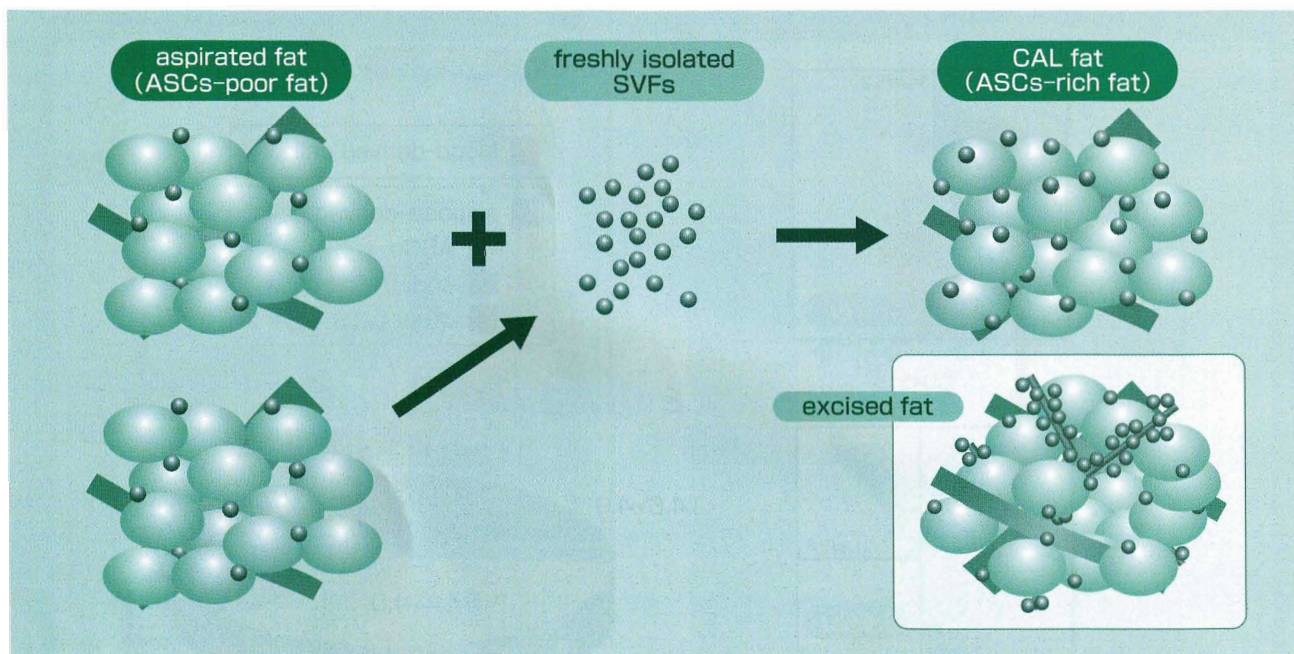


図4 cell-assisted lipotransfer (CAL) の基本概念

吸引脂肪は切除脂肪に比し、含まれているASCsの数が少ない。そこで、SVF採取用に余分に脂肪を採取する。ASCsが相対的に欠乏している吸引脂肪を scaffold としてASCsを接着させることにより、ASCs-rich脂肪として移植材料とする (文献13より改変引用)

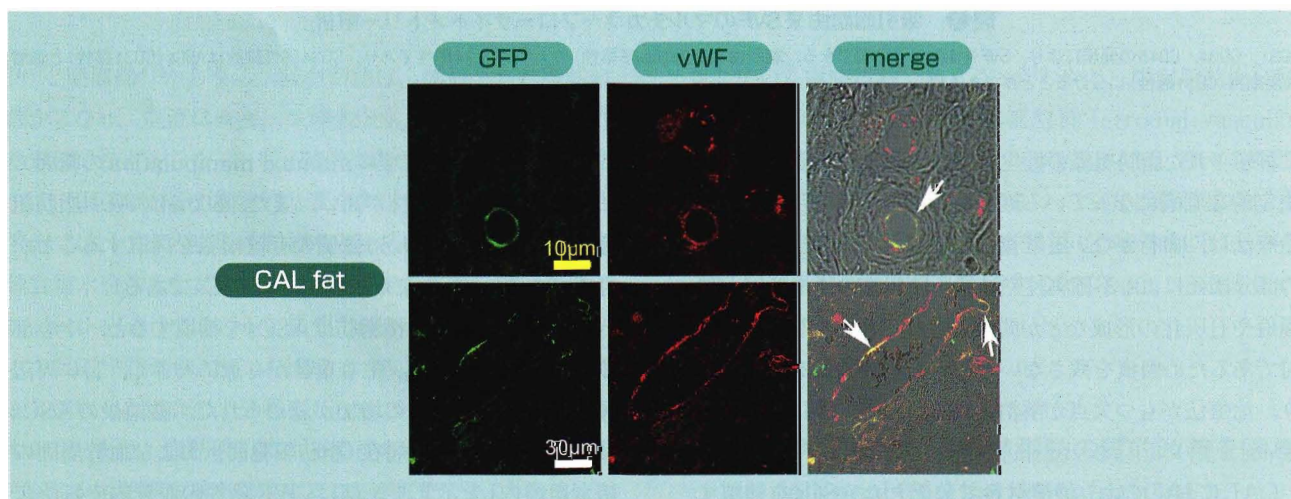


図5 GFP-SDラット由来ASCsとSDラット由来破碎脂肪との混合移植 (CAL fat) (SDラットに移植されている)

CAL fat内には、血管内皮のマーカである von Willebrand factor (vWF) 陽性の血管内皮が認められるが、その一部はGFP陽性であり、ASCsが血管内皮に分化したことを示している。血管壁全体がASCs由来である血管もあれば、壁の一部の内皮がASCs由来の血管もみられる (文献1より改変引用)

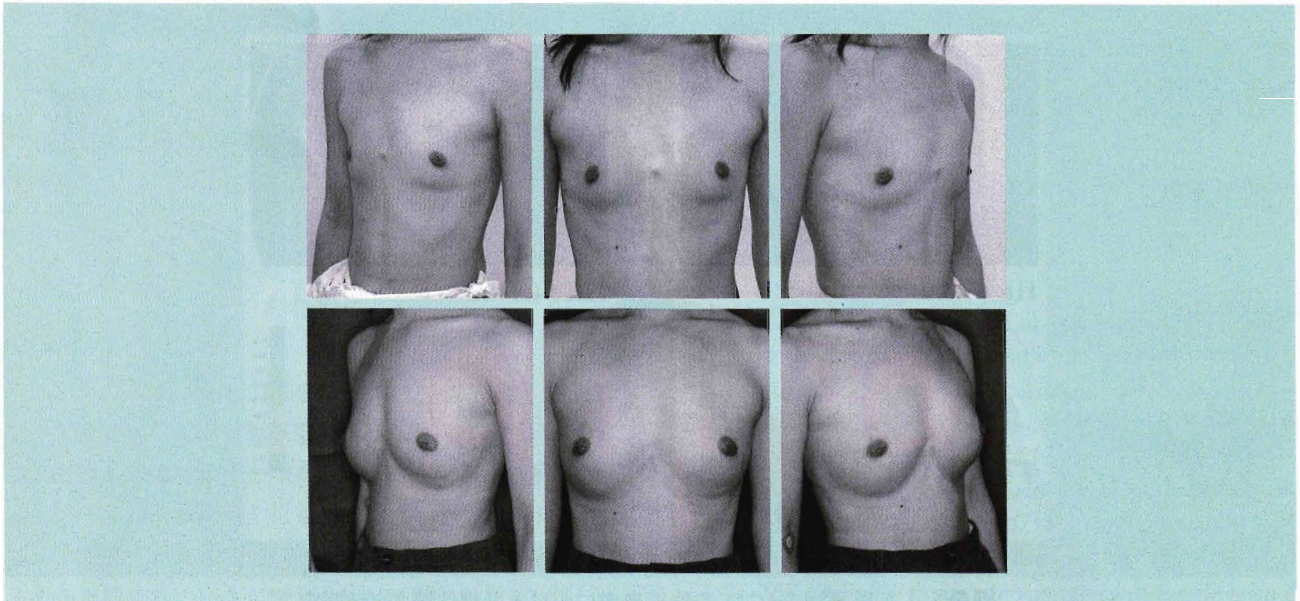


図6 CALによる豊胸術の1例

30歳、女性。術前(上)と術後24ヵ月(下)の状態。術前から軽度の胸郭変形があり、乳房の低形成を主訴に来院した。24ヵ月を経過して、触診、乳房撮影、MRIにおいて特に異常を認めない。アンダーバストとトップバストの差は術前に比べて8.0cm増加した (文献12より改変引用)

能である。遠心により吸引脂肪内の一部の脂肪細胞が破壊されるがASCsは残存し、水分が除去されるため、移植組織内の単位体積あたりの脂肪細胞数、ASCs数はそれぞれ25%、43%増加する(1,200gの遠心の場合)³⁾。

CALにおけるASCsの機能

CALにおけるASCsの役割は4つ考えられる。1つは、ASCsが成熟脂肪細胞に分化し、移植脂肪の脂肪細胞の一部を構築すること。ASCsは、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おり⁴⁾、移植後急性期の炎症や移植脂肪の刺激による脂肪細胞への分化は十分に考えられる。2つめは、ASCsが血管内皮細胞へ分化し、急性期の血管新生に寄与すること。ASCsが血管内皮細胞へ分化できることは最近の複数の研究^{1, 5-7)}

において確認された。3つめは、移植直後の低酸素(阻血)状態によって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し、移植組織の生着に寄与することである。ASCsは、低酸素状態でVEGFやHGFなどの血管新生作用をもつ増殖因子を分泌することが知られている⁸⁾。4つめは、未分化なASCsの状態で移植脂肪に存在し、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。ASCsは移植後も、本来のASCsと同じように結合組織内や脂肪細胞間に存在することが確認された。正常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⁹⁾、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(ASCs)不足が、術後の移植脂肪組織の萎縮に関連していると考えれば、ASCsを加えることによる萎縮抑制が期待できる。この移

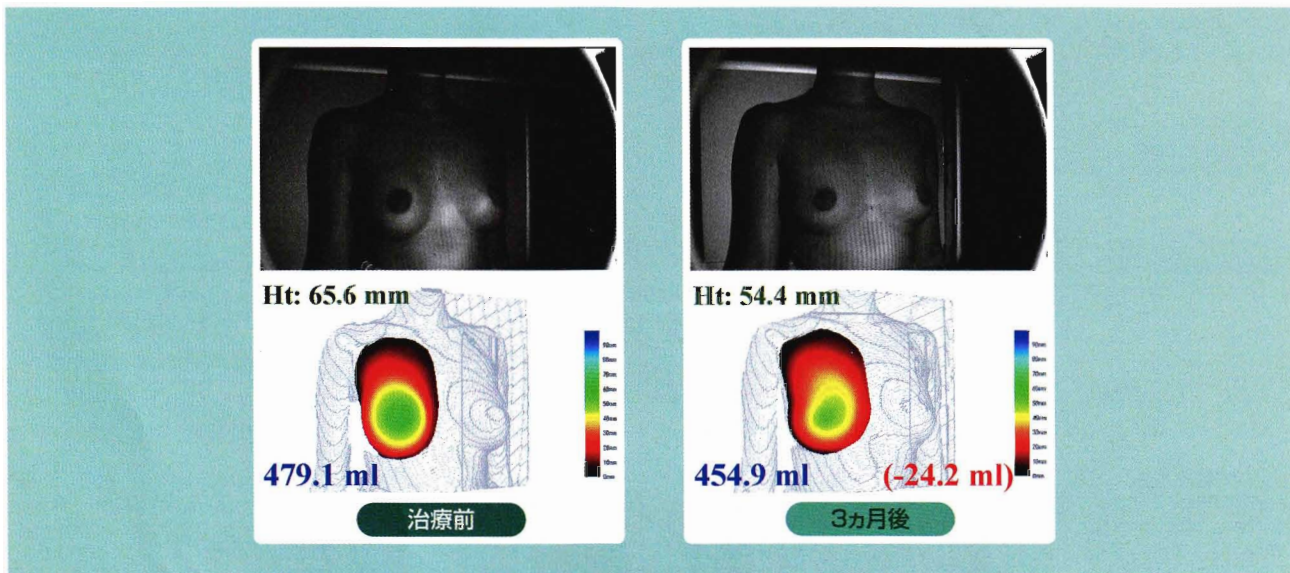


図7 人工乳房抜去・CAL豊胸術患者における乳房体積3次元測定

31歳、女性。以前に220mLのシリコンジェルインプラント(人工乳房)が挿入されており、異物反応によりカプセル拘縮を起こしている(左)。傍乳輪切開よりインプラントを抜去し、同時に230mLのCALを行った。3次元測定装置で術前、術後の評価を行ったところ、術後3ヵ月において術前より、乳房の高さは11.2mm、体積は24.2mLともに減少しているが、自然な乳房の形態と質感を実現した(右)。(インプラントの体積を考慮すれば約190mLの乳房体積の増加がみられている)

植脂肪の萎縮を抑える効果は、ほかの2つの動物実験^{10, 11)}からも示唆されている。臨床では、術直後よりも術後経過時間が長い場合の効果がより明確に認められることから、4番目の役割が大きいことが示唆されている。

CALの臨床応用

われわれは世界に先駆けてCAL組織増大術を臨床応用し、2003年よりこれまでに124症例に対して行った(2007年9月現在)。内訳は、乳房が108例(インプラントからの入れ替え15例を含む豊胸97例、乳房再建9例、漏斗胸2例)、顔面17例(若返り14例、顔面片側萎縮症1例、深在性エリテマトーデスによる脂肪萎縮症2例)、臀部2例、手2例で、1例を除きすべて女性である(重複あり)。

治療法は、まず採取した吸引脂肪の約半分と吸引廃液よ

りSVFを採取する(約90分)。残りの吸引脂肪に新鮮SVFを加え、接着させて患部に注入移植する。これまでに3通り(A: 非遠心吸引脂肪にSVFをcell pelletとして加える、B: まず非遠心脂肪を移植し、その後で別にSVFをcell suspensionとして注入、C: 遠心脂肪にSVFをcell pelletとして加えて接着させる)を試みた。豊胸術の場合で、移植脂肪の体積は左右各250~300mL、手術時間は約4時間である。最高42ヵ月の経過観察を行った。

結果は非遠心脂肪を用いたものより、遠心脂肪を用いたものがよく、SVFをcell suspensionとして別に注入するのではなく、cell pelletとして脂肪に接着させて移植したものがよかった。患者の満足度は高く、組織増大効果は全例において認められた(図6)。豊胸術の場合でその増大効果は100~200mLであった。副作用としては、cell suspensionを用いた例において移植部のびまん性線維化を認めた。また3例にmicrocalcificationを認め、さらに6例において

部分脂肪壊死による嚢胞形成 (5mm 以上 12mm 以下) を認めた。preliminary な臨床結果を報告したが^{12, 13)}、昨年より組織増大量の3次元定量測定システムを導入し(図7)、今後も長期経過観察を続けて有効性に関する定量解析結果を報告していく予定である。

おわりに

ASCsの本来の機能は脂肪組織のターンオーバーや修復、肥大などを司る組織前駆細胞であると思われる。組織の修復や肥大には血管新生を伴う必要があり、その血管新生をもカバーする前駆細胞としての機能をもっている可能性もある。最近、動脈の血管平滑筋のすぐ外側に血管新生にかかわる前駆細胞の局在が報告されたが¹⁴⁾、局在からはわれわれが考えるASCsの一部とまったく同じ細胞であると思われる。広範囲の臨床応用が可能な血管前駆細胞と同等の細胞が吸引脂肪から採取できるとすれば、その意義は非常に大きい。

文献

- 1) 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** (12): 3375-3382, 2006
- 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** (1): 64-76, 2006
- 3) 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* [in Press]
- 4) Considine RV, Nyce MR, Morales LM et al: Paracrine stimulation of preadipocyte-enriched cell cultures by mature adipocytes. *Am J Physiol* **270** (5 Pt 1): E895-E899, 1996
- 5) Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B et al: Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* **109** (5): 656-663, 2004
- 6) Miranville A, Heeschen C, Sengenès C et al: Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* **110** (3): 349-355, 2004
- 7) 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** (2): 370-379, 2005
- 8) Rehman J, Traktuev D, Li J et al: Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* **109** (10): 1292-1298, 2004
- 9) Strawford A, Antelo F, Christiansen M, Hellerstein MK: Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in humans measured with 2H2O. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286** (4): E577-E588, 2004
- 10) Masuda T, Furue M, Matsuda T: Novel strategy for soft tissue augmentation based on transplantation of fragmented omentum and preadipocytes. *Tissue Eng* **10** (11-12): 1672-1683, 2004
- 11) 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
- 12) Yoshimura K, Sato K, Aoi N et al: Cell-Assisted Lipotransfer (CAL) for Cosmetic Breast Augmentation-Supportive Use of Adipose-derived Stem/Stromal Cells-. *Aesthetic Plast Surg* 2007; doi: 10.1007/S00266-007-9019-4
- 13) 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]
- 14) Zengin E, Chalajour F, Gehling UM et al: Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development* **133** (8): 1543-1551, 2006