

# 論文の内容の要旨

論文題目 脂肪組織移植後の組織再構築に関する研究

氏名 土居健太郎

形成外科領域において脂肪移植は軟部組織再建方法として有力である。手術適応も従来の軟部組織再建目的だけではなく、放射線障害、乳房拘縮、声帯障害、慢性潰瘍などへと広がっている。しかし、現在の術式では生着率・効果や合併症といった手術結果のばらつきが多く、術者の技量による差も大きい。そのため脂肪移植術のさらなる改良、標準化が望まれている。

脂肪組織中に存在する脂肪由来幹細胞（Adipose derived stem/progenitor cells；以下 ASCs）は分裂・遊走・分泌・分化することにより脂肪生着過程に関わっている。ASCsはこれまでの研究により脂肪細胞や間葉系細胞への多分化能を持つばかりでなく、内胚葉・外胚葉系への分化能が有ること、傍分泌による免疫調整能が有ることなどが報告されている。このASCsの多能性が脂肪移植術の軟部組織増大以外の効果に対する理論的背景となっているが、不明な点が多い。特に、治療効果が移植したドナー脂肪組織によるものなのか、移植によって遊走・分化したホスト細胞によるものかについてはほとんど報告されていない。本研究では、移植脂肪に含まれる細胞をドナー細胞・ホスト骨髄細胞・ホスト非骨髄細胞に分類し、移植脂肪のリモデリング過程の関わりを明らかにした。脂肪細胞、血管壁細胞、血管内皮細胞、ASCsに注目し、脂肪移植の病態生理を解明することで、今後脂肪移植術の改良の手がかりになると考えた。

本研究では主に2種の動物モデルを用いた。マウス交換移植モデルとマウス骨髄移植-自家脂肪移植モデルである。マウス交換移植モデルではコントロールのB6マウスと全細胞にGFPを発現するGFPマウスから採取した鼠径脂肪の交換移植を行い、ドナーとホストを識別した。マウス骨髄移植-自家脂肪移植モデルでは、骨髄細胞をGFPで標識した骨髄移植マウスを用いて鼠径脂肪を自家移植することで、骨髄・非骨髄細胞の識別を行った。GFPによる標識は有用で、ホールマウント染色、免疫組織化学、検体をコラゲナーゼ処理することによって得られる間質血管細胞群(Stromal vascular fractions: SVF)のフローサイトメトリー解析・培養実験において同様の結果を得ることができた。

マウス交換移植モデルによりホスト細胞を追跡した。ホスト細胞は移植後1週で最心部へ浸潤しており、全期間にわたり主にperilipin陰性の死脂肪細胞の領域に局在した。移植後脂肪組織は外表から順に生着領域、再生領域、壊死領域にわけられる。Perilipin陰性領域とは再生領域もしくは壊死領域であり、ホスト細胞が脂肪組織再構築に関わっていることが示された。連続切片の免疫組織化学ではホスト細胞の多くはマクロファージマーカーのMac2陽性で、死脂肪細胞を取り囲み貪食に関わっていると考えられた。移植後初期はホスト細胞の90%以上、脂肪新生が終了したと考えられる移植後12週においても60%以上のホスト細胞がマクロファージ

であった。移植後 12 週のモデルによりホスト細胞がマクロファージ以外にどのように貢献しているのか検討した。

ホスト細胞由来の成熟脂肪細胞は移植脂肪内に認められたが、非常に稀で、ホスト骨髄細胞由来の成熟脂肪細胞は観察できなかった。これは高脂肪食下のマウスや糖尿病マウスを用いた先行研究でホスト骨髄由来の成熟脂肪細胞が観察された結果と反する。これは脂肪移植のマクロファージによる強い貪食過程が一因であると考えられた。脂肪細胞を貪食するマクロファージ存在下で脂肪新生が抑制されている可能性がある。

大血管の壁構造はほとんどドナー細胞により構成されており、ホスト細胞の貢献は約 13~38%と少なかった。一方、毛細血管及び血管内皮細胞に関してはドナー細胞とホスト骨髄細胞がほぼ半数貢献しており、ホスト非骨髄由来の細胞は少数であった。脂肪移植におけるホスト細胞の血管新生過程には **Angiogenesis** 型血管新生ではなく、**Vasculogenesis** 型血管新生が主体であることが示された。血管新生はドナー・ホストの細胞が協調して関わっており、キメラ様血管も観察できた。

先行研究では、正常組織中の骨髄由来の ASCs は非常に稀であると報告されてきた。しかし脂肪移植後にはこの割合は大きく増加し、ホスト骨髄細胞・ホスト非骨髄細胞・ドナー細胞がおおよそ均等に ASCs を構成していた。骨髄には骨髄由来幹細胞と呼ばれる ASCs と極めて似た性質を持った間葉系幹細胞が存在する事が報告されているが、この骨髄由来幹細胞が移植脂肪へ遊走・定着したものと考えられる。本研究のみで ASCs となったホスト非骨髄細胞の起源を特定することはできないが、周囲の脂肪組織の可能性が高いと考える。脂肪組織が ASCs のリザーバーとして機能しており、ASCs が骨髄由来幹細胞と同様に遊走・遠隔地へ定着することが本研究により示唆された。

脂肪移植術の病態生理には対立する理論が提唱されてきた。最も初期には移植脂肪は完全に死滅し、線維性組織やホスト由来の新生脂肪組織により完全に入れ替わるという理論が一般的であった。組織学的検討が進むにつれ、移植した脂肪の一部は長期生着し、生着しなかった部分は貪食細胞などにより吸収されるという理論が提唱されるようになった。本研究により両理論が共に正しいことが判明した。生着領域ではドナー細胞が多く残存し、再生領域・壊死領域では細胞種によってドナー・ホスト骨髄・ホスト非骨髄細胞が新生脂肪組織を構成していると考えられる。脂肪移植術は移植物が一部生着し、その他がホスト由来細胞に貪食されるだけではない。ホスト骨髄からは骨髄由来細胞（骨髄由来幹細胞・血管前駆細胞・ファイブロサイトなど）が遊走し、移植脂肪内で血管構造や ASCs となっていると考えられる。ホスト非骨髄（隣接した脂肪組織など）からは局在する幹細胞が遊走、移植脂肪内へ定着し、組織再構築に関わっていると考えられる。

これらの一連の体性幹細胞・前駆細胞の挙動は移植した脂肪組織が死にゆく時に放出する様々な液性因子によって引き起こされていると予想される。今後より詳細に研究を進め、脂肪移植に関わるダイナミックな体性幹細胞の挙動をコントロールすることができれば、本研究があらゆる組織再生治療の礎になると考える。