

脱分化脂肪細胞による血流不全組織の救済効果に関する検討

The effect of mature adipocyte-derived dedifferentiated fat (DFAT) cells on ischemic tissue

樫村 勉¹⁾, 副島一孝¹⁾, 松本太郎²⁾, 仲沢弘明¹⁾

Tsutomu KASHIMURA¹⁾, Kazutaka SOEJIMA¹⁾, Taro MATSUMOTO²⁾, Hiroaki NAKAZAWA¹⁾

¹⁾ 日本大学医学部形成外科学系形成外科学分野, ²⁾ 日本大学医学部機能形態学系細胞再生・移植医学分野

【要旨】

形成外科領域では、皮膚軟部組織欠損に対する再建の一方法として皮弁移植や阻血性皮膚潰瘍治療や熱傷治療など局所の血流を念頭においた診療を日常的に行っている。本学では、高い増殖能と間葉系幹細胞と同等の多分化能を示す脱分化脂肪細胞 (Dedifferentiated Fat Cells 以下、DFAT) を調製する培養法を確立した。これまでにわれわれは、同種同系のラットから得られた DFAT を投与することでラットの背部皮弁の生着域拡大効果が得られることを報告してきた。今回、Wistar 系ラットから得られた DRAT を Sprague-Dawley 系ラットの背部皮弁に投与し、生着域を拡大しうるか検討し、一定の皮弁の生着域拡大効果が得られることが明らかとなったため報告する。

【はじめに】

近年、骨髄や脂肪を細胞ソースとした多分化能を有する間葉系幹細胞が開発され血流不全に起因する病態への治療が模索されている。その中で、幹細胞の血管新生作用による皮弁の生着域拡大に関する研究が行われており、一定の効果が得られることが報告されている (1-2)。

われわれはブタの皮下脂肪組織を体外で脱分化させることにより、高い増殖能と間葉系幹細胞と同等の多分化能を示す細胞群 (脱分化脂肪細胞 dedifferentiated fat cells, DFAT) を調製する培養法を確立した (3)。これまでにわれわれは、同種同系ラットに由来する DFAT をラット背部の乱走型皮弁に投与し皮弁生着域拡大効果についての検討を行い、皮弁の基部に DFAT を投与することで高い血管新生効果と生着域拡大効果が得られることを報告してきた (4)。今回、同種異系ラットに由来する DFAT を用いて同様にラット背部の乱走型皮弁に投与し皮弁生着域を拡大しうるか検討したため報告する。

【対象及び方法】

Wistar 系ラットの腹腔内脂肪を天井培養することで DFAT を単離培養した。SD (Sprague-Dawley) 系ラットの背部に乱走型皮弁 (2×9cm) を挙上した。対照群 (未治療: Group I) (n=10) と DFAT 投与群: (DFAT (1×10⁶ cells/0.1ml) を作製した。DFAT 投与群は、皮弁中央投与群: Group II (n=10) と皮弁基部より 2cm に投与する皮弁基部投与群: Group III (n=10) の 2 群を作製した。挙上した皮弁は下床にシリコンシートを埋入し再縫合した。術後 14 日目に生着域を

測定し組織を採取した。H-E 染色、墨汁染色により組織学的検討を行った。(図1)

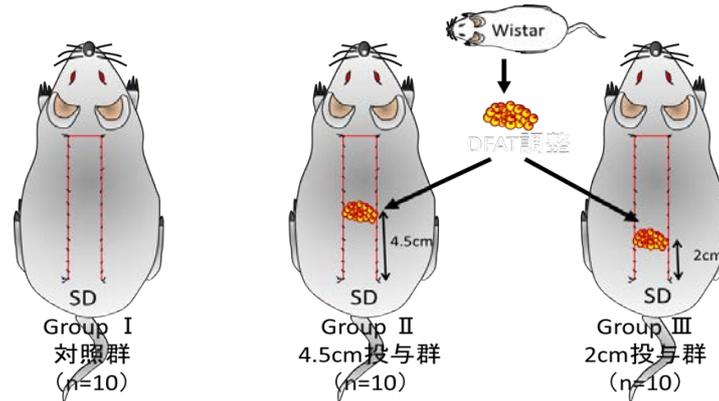


図1. 各実験群

【結果】

術後 14 日目に皮弁の生着域と壊死部分の境界は明瞭であった。皮弁の平均生着率は対照群: $53.8 \pm 6.5\%$ 、皮弁中央投与群: $53.5 \pm 4.9\%$ 、皮弁基部投与群: $62.8 \pm 5.9\%$ であり、皮弁基部投与群で皮弁生着域は有意に拡大した(図2)。H-E 染色では、DFAT を移植し皮膚筋層下の結合組織が肥厚していた。墨汁染色でも同様に皮膚筋層下の結合組織の肥厚が確認でき、内部には墨汁で染色される著明な血管増加を認めた(図 3, 4)。

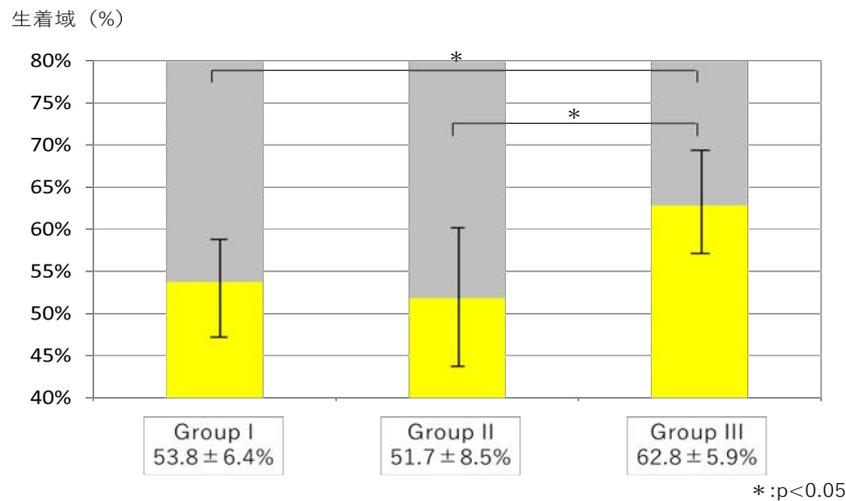


図2 各実験群の皮弁生着域

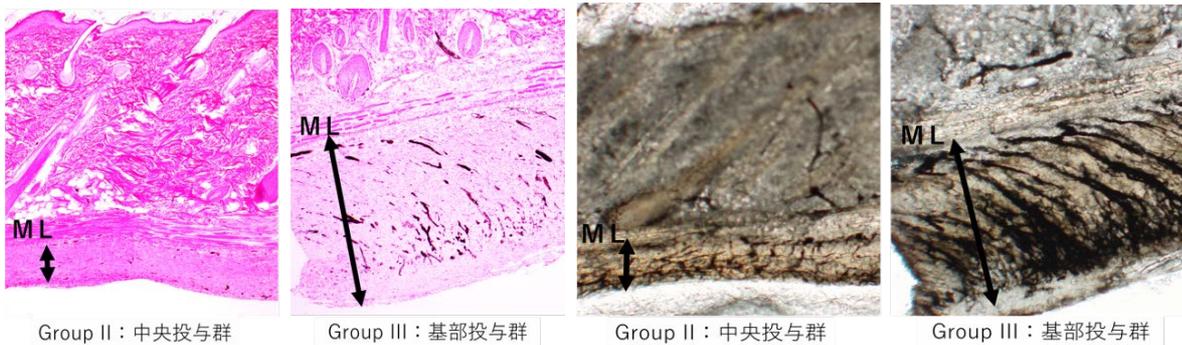


図3. H-E 染色

図4. 墨汁染色

(ML:皮膚筋層)

【考察】

これまでにわれわれは、同系 DFAT をラット背部の乱走型皮弁に投与し皮弁生着域拡大効果についての検討を行い、皮弁の基部に DFAT を投与することで 12%の皮弁生着域の拡大効果が得られることを報告してきた。DFAT の調整には、通常 3 週間程度を要する。したがって、同種同系 DFAT の投与による皮弁生着域拡大効果を得るためには、治療の 3 週間前に脂肪を採取し DFAT の調整を行う必要がある。DFAT による血流不全組織の救済は、剥脱創や熱傷などの外傷治療においても応用可能と考える。しかしながら、外傷や緊急手術などの治療においては同種同系 DFAT を調整する時間的な猶予がない。したがって、これら緊急の場合にはあらかじめ凍結保存しておいた同種異系 DFAT による治療が必要となる。そこで、今回われわれは同種異系 DFAT による皮弁生着域拡大効果についての検討を行った。同種異系 DFAT の皮弁基部への投与により9%の皮弁生着域拡大効果が得られた。同種同系 DFAT の投与に比較して拡大効果はやや劣るものの両群で有意差は認めなかった。皮弁中央部への投与は、同種同系 DFAT の投与と同様に壊死部近傍への投与であったため DFAT が生着せずに生着域の拡大効果が得られなかったと考える。(図5)

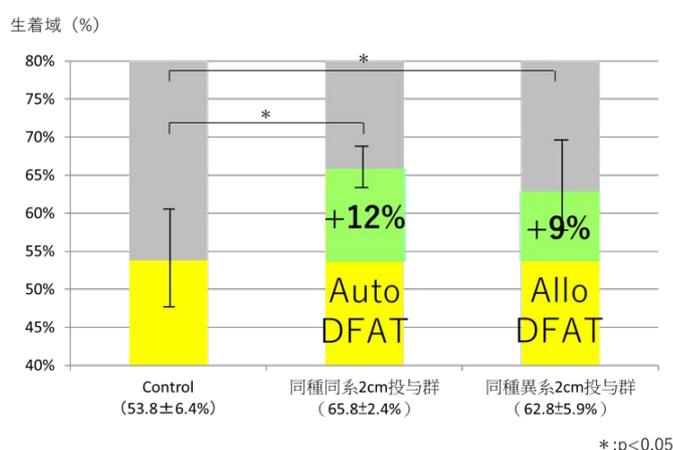


図5. 同種同系 DFAT と同種異系 DFAT の投与による皮弁生着域

【結語】

同種異系に由来する DFAT においても、一定の皮弁生着域拡大効果が得られた。自家脂肪細胞による待機的な治療に加え、凍結保存された同種異系 DFAT による緊急時の使用の有効性が示唆された。外傷など DFAT の調整に要する時間的な猶予がない場合に、同種異系 DFAT の投与は有効な治療のオプションになりうると考えられた。

【参考文献】

- 1) Gong L, Wang C, Li Y, Sun Q, Li G, Wang D. Effects of human adipose-derived stem cells on the viability of rabbit random pattern flaps. *Cytotherapy*. 2014;16(4):496-507.
- 2) Yang M, Sheng L, Li H, Weng R, Li QF. Improvement of the skin flap survival with the bone marrow-derived mononuclear cells transplantation in a rat model. *Microsurgery*. 2010;30(4):275-81.
- 3) Matsumoto T, Kano K, Kondo D, Fukuda N, Iribe Y, Tanaka N, et al. Mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells exhibit multilineage potential. *J Cell Physiol*. 2008;215(1):210-22.
- 4) Kashimura T, Soejima K, Asami T, Kazama T, Matsumoto T, Nakazawa H. The Effect of Mature Adipocyte-Derived Dedifferentiated Fat (DFAT) Cells on a Dorsal Skin Flap Model. *J Invest Surg*. 2015:1-7.