

脂肪前駆細胞の利用

吉村浩太郎

連絡先

〒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、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(pre-adipocytes, 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、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るとともに、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潜在能力を持っていること、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

脂肪細胞は巨大な脂肪滴を含有した単核細胞で、その大きさは大きいものでは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らず、細胞数が増えることにより組織体積を増やすことが知られている。脂肪細胞は脂肪組織の体積の90%以上を占めているが、細胞数で見ると半分未満に過ぎず、毛細血管を構成する血管内皮細胞や周皮細胞、脂肪間質細胞(前駆細胞、ASC)などが数多く存在する[2,3]。結合組織には大きな血管やリンパ管が存在し、細胞外基質の主要構成物として数種のコラーゲン、ラミニン、フィブロネクチンなどが知られている。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[4]、脂肪細胞の増生には必ず毛細血管新生を伴うことが知られている(図1)。脂肪細胞の寿命については不明の点が多かったが、最近およそ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ターンオーバーしていることが明らかにされた[5]。

脂肪組織を酵素処理することにより、脂肪細胞以外の脂肪組織由来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。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(割合は混入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)。

III. 脂肪間質細胞(ASC)の特徴

ASC は接着細胞であり、DMEM/F12 などの培地で容易に大量培養が可能である。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おり、血管内皮細胞用の培地なども使われる。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]。骨髄由来間葉系幹細胞や皮膚由来線維芽細胞と形態的には酷似しているが、培養状態でも CD34、CD105 の発現が多く見られる相違点がある[2]。

ASC は毛細血管に随伴して脂肪細胞間に存在しているとともに、大きな血管の周囲(外膜内)に局在していると考えられる。この血管壁の特定部位は血管に分化する細胞が局在することから血管幹細胞のニッチとして機能しているとの仮説もある[6]。脂肪細胞間では ASC は毛細血管に隣接して局在する所見などから、ASC は血管周皮細胞として存在、機能しているとの説も近年提唱されている[7,8]。

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、アディポネクチンは除く)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[9]。ASC には多分化能を持つ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[10]。

IV. 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)[11]や、②クローン病に併発する直腸膿瘍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)[12,13]、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)[14,15]、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)[16]、⑤ヒアルロン酸ベースのスキヤフォードに自己 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)[17]、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)[18]、⑦急性心筋梗塞に対する新鮮自己 ASC の投与(オランダ)、などが報告されている。このように、主に自己 ASC、なかでも新鮮 SVF の状態での利用が多く、また補助的な利用が多いことから、特に安全性を重視した取り組みが多いことがうかがえる。

V. ASC を利用した脂肪組織移植

脂肪組織移植は現在までに軟部組織増大を目的として行われており、具体的には先天性・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)や美容的改善(豊胸、ヒップリフトなどの体形の改善、顔面の若返りなど)を対象としている。最近で

は皮下脂肪を内臓脂肪として移植することによる糖代謝能の改善など機能的な治療効果も実験的に示唆されている[19]。

移植後の脂肪組織は一時的に阻血状態に置かれ、脂肪組織の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す[20]。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前駆細胞に乏しいため[21]、含有前駆細胞を補充することにより移植後の組織の萎縮を抑える試みが行われている。豊胸術等の美容手術や、乳がんや顔面変性疾患の再建に応用され、これまでに200数十例に対して行われている[14,15]。

VI. 今後の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、前臨床研究では四肢や皮膚などの虚血組織の血行改善(血管新生誘導)[22]、骨格筋再生(筋ジストロフィーなど)[23]、癒痕や線維化改善(HGFを介して)[20]、神経再生(脊髄損傷など)[24]、肝機能再生[25]、ASC細胞シートによる心機能改善[26]などにおいて有効性が示唆されており、将来的な臨床応用に発展する可能性がある。このようにASCは骨髄由来MSCとほぼ同等の臨床応用が想定されていると言える。

ASCにbFGF、PDGFやEGFなどの刺激を複合的に与えるとFlk-1を発現し、血管内皮細胞に容易に分化できるようになる。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[27]。

VII. おわりに

ASCに関する研究報告は最近も増加の一途をたどっており、ASCの潜在能力が広く認知されて来ていることを反映している。脂肪吸引で切除された脂肪組織は、組織増大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。脂肪由来幹細胞は、間葉系幹細胞であるとともに、血管と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。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への展開が期待される。

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) Yoshimura K, Shigeura T, 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) 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.

4) Kubik S., Kretz O. Initial lymph vascular system of various tissues and organs. In *Foldi's textbook of lymphology* (edit by Foldi M. et al.) 2nd edition, pp24-41, Elsevier GmbH, Munich, Germany, 2006.

5) Spalding KL, Arner E, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 453: 783-787, 2008.

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

7) Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, 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.

8) Amos PJ, Shang H, et al. IFATS Series: the role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells* 2008, doi:10.1634/stemcells.2008-0030

9) 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.

10) Miñana MD, Carboell-Uberos F, et al. IFATS series: identification of hemangioblasts in the adult human adipose tissue. *Stem Cells* 2008; doi: 10.1634/stemcells.2007-0988

11) 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.

12) García-Olmo D, García-Arranz M, et al. Autologous stem cell transplantation for treatment of rectovaginal fistula in perianal Crohn's disease: a new cell-based therapy. *Int J Colorectal Dis* 18: 451-454, 2003.

13) 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.

14) 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.

15) 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.

16) 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.

17) 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.

18) Alvarez PD, García-Arranz M, Georgiev-Hristov T, García-Olmo D. A new bronchoscopic treatment of tracheomediastinal fistula using autologous adipose-derived stem cells. *Thorax* 63: 374-376, 2008.

19) Tran TT, Yamamoto Y, et al. Beneficial effects of subcutaneous fat transplantation on metabolism. *Cell Metab* 7: 410-420, 2008.

20) 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* 2008 doi:10.1634/stemcells.2008-0261

21) 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.

22) Miranville A, Heeschen C, et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 110: 349-355, 2004.

23) Rodriguez AM, Pisani D, et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med* 201: 1397-1405, 2005.

24) Kang SK, Shin MJ, et al. Autologous adipose tissue-derived stromal cells for treatment of spinal cord injury. *Stem Cells Dev* 15: 583-594, 2006.

25) Banas A, Teratani T, et al. IFATS series: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells (AT-MSCs) after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008, doi:10.1634/stemcells.2008-0034

26) Miyahara Y, Nagaya N, et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 12: 459-465, 2006.

27) Yoshimura K, Aoi N, Suga H, Inoue K, Eto H, Sato K, Kurita M, Harii K, Hirohi T. Ectopic fibrogenesis induced by transplantation of adipose-derived progenitor cell suspension immediately after lipoinjection. *Transplantation* 85: 1868-1869, 2008.

脂肪組織の模式図

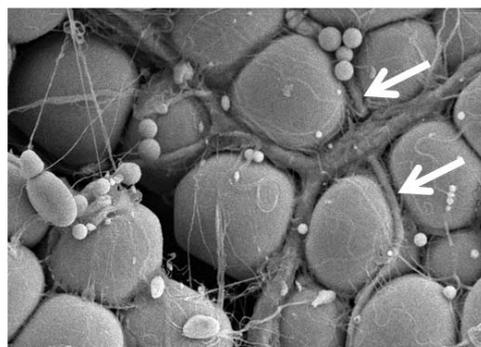
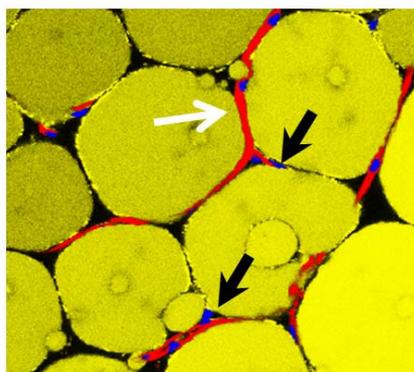
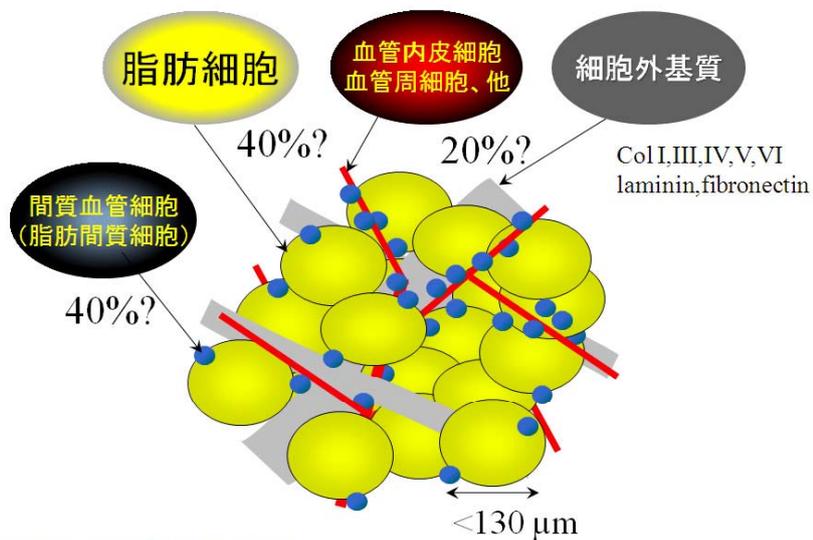


図1. ヒト正常脂肪組織の構造

(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。

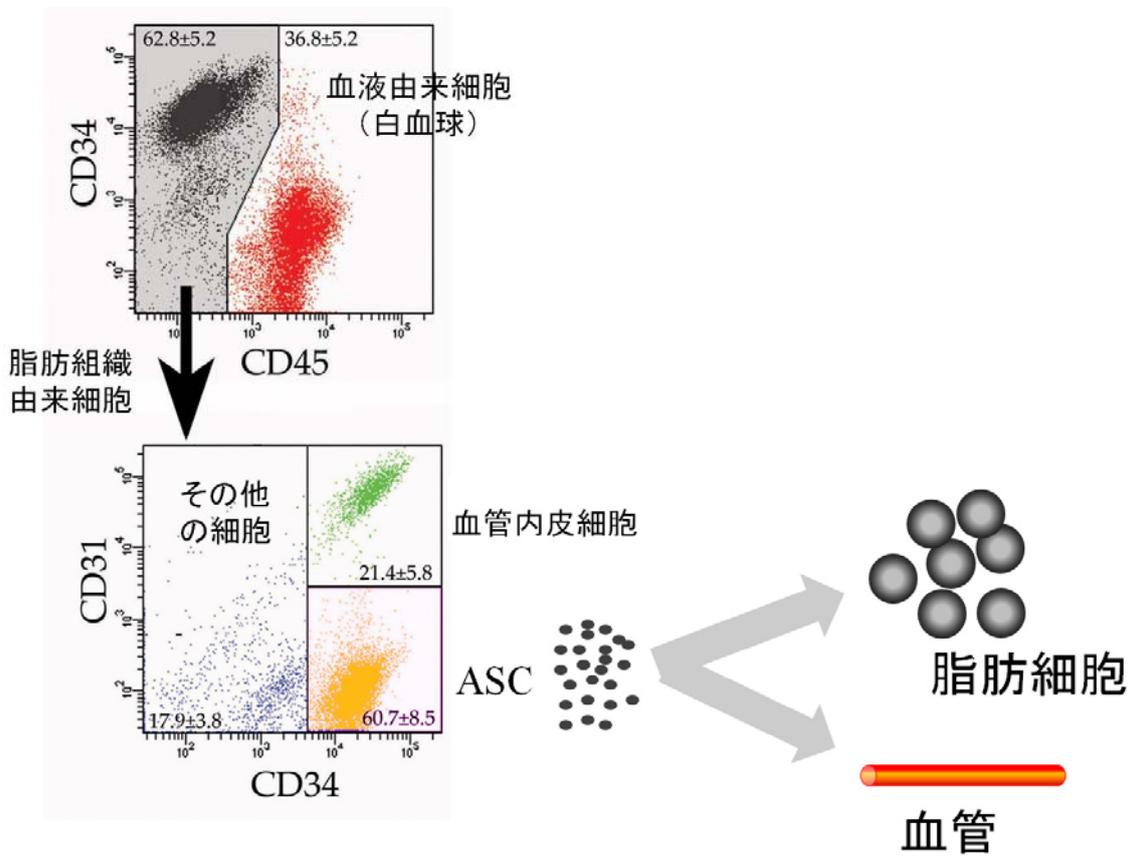


図2. 脂肪吸引組織由来細胞群(SVF)のマルチカラーフローサイトメトリー解析

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。