

の概略を説明し、将来的に Lipodystrophy の形成外科的な手術にも希望を見出した数名の患者さんの治療歴を見直し、同時に心理的な面にも視点をあてて、この病態が HIV 感染者の健康状態にどのような影響を及ぼしているかを探索する。

B. 研究方法

外来通院中で、Lipodystrophy に特徴的な顔貌を呈している患者の中から、特に顕著な変化があり、昨年度の研究成果にふれて将来的な形成外科的な治療に対しても興味を持たれた患者さんを研究対象とする。10 年近くにわたる病歴を詳細に振り返ると共に、患者自身で風貌がどう変化したかを思い起こしていただき、いつ頃から Lipodystrophy が発生したかを推測する。使用薬剤をチェックし、薬剤との因果関係を探索する。Lipodystrophy を惹起した可能性のある薬剤を中断してからの顔貌・体型の変化を主治医と患者本人の記憶をたどり、存在する場合は、患者本人の写真を参考にしながら、顔貌の変化を経過的に振り返る。

(倫理面への配慮)

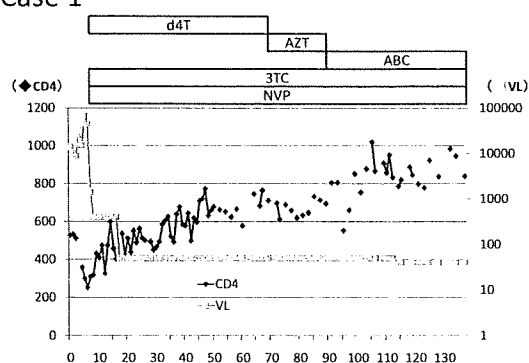
症例番号をふるのみで、生年月日も示さない形態で報告し、個人が特定できないように万全の配慮を配る。研究報告書であるが、特別な治療を行った日時などは伏せる。今回、顔貌、体脂肪の状況を含めた写真撮影を行ったが、報告書へは掲載しない。顔貌の検討についても詳しい記載は行わない。

C. 研究結果

Case1 : 当センター通院期間は 11 年 3

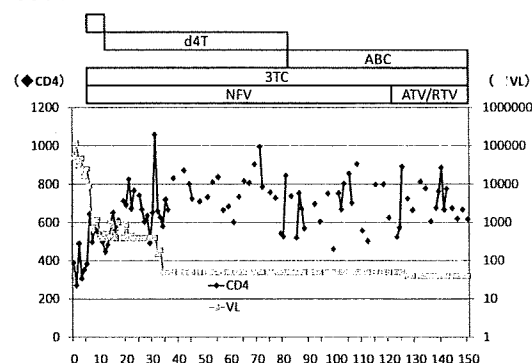
ヶ月。HAART の内服期間は 10.6 年 (129 ヶ月) に及ぶ患者さんであり、キードラッグは NVP であり、全経過を通じてキードラッグの変更はない。HAART 開始時より d4T と 3TC をバックボーンとして使用した。d4T の総内服期間は 63.8 ヶ月であった。d4T のみを AZT に変更し HAART を継続したが、約 19 ヶ月後に、AZT を ABC に変更した。ここ 46 ヶ月あまりは ABC/3TC/NVP で継続中で CD4 は 800 以上、VL も検出限界未満に抑えられている。

Case 1



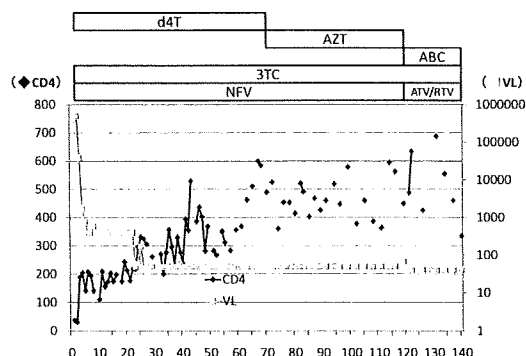
Case 2 : 通院期間は 12 年 4 ヶ月。HAART 内服期間は 145 ヶ月に及ぶ。122 ヶ月余り NFV がキードラッグであり、その後は ATV に変更している。バックボーンの 1 剤は 3TC であり、他は 5 ヶ月余り AZT でその後 70 ヶ月余り d4T、更に 67 ヶ月 ABC である。CD4 は 600 以上に保たれ、VL も検出限界未満に抑えられている。

Case 2



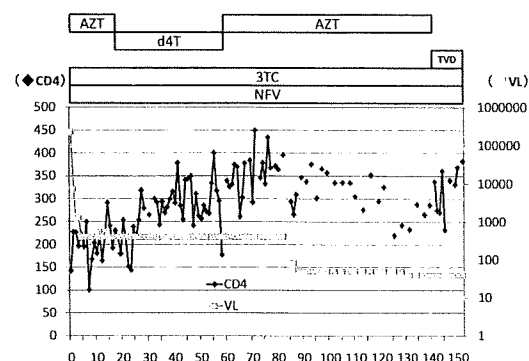
Case 3: 通院期間は11年4ヶ月。HAART内服期間もほぼ同様で137ヶ月。Case2の場合と類似しており、120ヶ月程NFVをキードラッグとし、その後ATVで17ヶ月経過している。バックボーンとしてd4Tを70ヶ月弱使用し、50ヶ月ほどAZT、その後17ヶ月ほどABCを内服している。CD4は若干変動が大きいだが400以上を保ち、VLは検出限界未満に抑えられている。

Case 3



Case 4: 通院期間は152ヶ月、12年半。HAART内服期間もほぼ同様である。キードラッグは一貫してNFVであり、バックボーンの1剤も3TCで変更がない。もう1剤のバックボーンは当初短期間ddCを用いたが、口腔潰瘍のため2週間ほどでAZTに変更し、その後15.8ヶ月間AZT、その後42ヶ月d4Tを使用し、再び82ヶ月ほどAZTに戻し、最終的にTVD(ツルバダ)に変更し10.8ヶ月となっている。CD4は350前後であるが、VLは検出限界未満に保たれている。

Case 4



この4症例は、研究代表者が報告しているような特徴的な顔貌から、当施設の複数名の外来看護師よりLipodystrophyと認識された患者である。その他にも多くの患者が散見されたが、研究分担者の担当の通院患者であり、いずれも10年以上のHAART内服期間があり、今回詳細に病歴をご本人達の同意を頂いて調査し、検討に用いた。

D. 考察

外来看護師の眼力による協力を得て、某月の研究分担者の外来通院患者の中から、特徴的な顔貌などから、Lipodystrophyが疑われる数名の患者さんを選定した。その中から匿名化した検討を行うことに快く同意していただいた4名の患者さんを今年度の検討対象とした。ここ数年間の外来診察時には、つとめて顔貌の変化などのことを指摘してこなかった分担研究者から、数年ぶりに顔貌の変化などに関する質問があり、いずれの患者さんも驚かれた。心理的なことにも話題が及び、見た目には何気なく通院はされていたが、顔貌のことが気になって、実は引きこもりになりそうだった時期もあったなどとの発言があった。これまでは、本人も気にされていることで

あり、敢えて腫れ物に触れないようにして、顔貌の変化などのデリケートな現実から眼を遠ざけて、ここ数年間、患者さんに接していた医療姿勢に反省をすべきと思いを新たにしている。問いかけてくれて良かったという、感想に救われた思いがするが、HAART 内服によりこの先も新たな有害事象が生じることもあり得るので、万が一有害事象が生じたときにも、処方した者として、常に真摯に受け止める必要があることを再認識した。

1990年代にHAARTを開始した患者さんは、自覚的な副作用に耐えられる限り同一の組み合わせを継続する傾向が見られる。選択肢の無い時代に、HAARTを開始したことが、キードラッグへのこだわり繋がっていると考えられる。かつては核酸系逆転写酵素阻害剤の方が、むしろ主幹薬として認知されていた。プロテアーゼ阻害剤と非核酸系逆転写酵素阻害剤が台頭するようになって、この2群のいずれかをキードラッグと考えるようになった。かつての主幹薬であった逆転写酵素阻害剤はバックボーン的位置づけへ格落ちした感がある。

次年度は、研究分担者の通院患者はもちろん、かつてd-drugsを使用した当施設へ通院中の患者さん全てに、Lipodystrophyの客観的な評価を実施したいと考えている。

今回具体的な臨床経過を提示した者はわずか4症例のみであり、d-drugsの中なかでもd4Tに偏った調査であり、ddIの内服者を対象にできなかったので次年度は検討に加えたい。Dd-drugsのみがLipodystrophyの原因とは断定しがたいが、これらが投与された期間以上の経過観察をもってしても未だに

Lipodystrophyから復していない現状を目の当たりにして、精神的な苦痛を含めてレスキューできる道を模索し続けたい。

E. 結論

d-drugsの使用頻度が少なくなり、ここ数年間は新たなLipodystrophyの出現は激減した印象があるが、決してLipodystrophyは過去の病気になったわけではなく、現在進行形の病態であり、今後も原因究明のために検討を続けなければならない。薬剤変更によっても、顔貌が復してこない症例には、脂肪幹細胞注入療法などの積極的な治療介入が必要である。

F. 健康危機情報

本検討は、通院患者に対する後ろ向きの検討であり、新たな健康危機を与えるものではないが、d-drugsによると疑われるLipodystrophyの報告は枚挙に暇がないが、あらためて注意喚起する必要があると感じた。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

1. Watanabe T, Yasuoka A, Tanuma J, Yazaki H, Honda H, Tsukada K, Honda M, Gatanaga H, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Serum (1→3) beta-D-glucan as a noninvasive adjunct marker for the diagnosis of Pneumocystis pneumonia in patients with AIDS. Clin Infect Dis. 2009 Oct 1;49(7):1128-31.
2. Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sakai H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus in Japan: a

retrospective multicenter analysis. Hepatol Res. 2009 Jul;39(7):657-63.

3. Kamimura M, Watanabe K, Kobayakawa M, Mihara F, Edamoto Y, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Successful absorption of antiretroviral drugs after gastrojejunal bypass surgery following failure of therapy through a jejunal tube. Intern Med. 2009;48(12):1103-4.

和文

1. 小池和彦、菊池 嘉、安岡 彰、山中 晃、後藤耕司. HIV 感染症に合併する日和見感染症の現状と治療. 日本内科学会雑誌. 98(11): 2849-2869, 2009.
2. 学会発表
 1. 菊池 嘉、岩本愛吉、佐藤典宏、伊藤俊広、田邊嘉也、横幕能行、上田幹夫、渡邊 大、藤井輝久、南 留美、宮城島拓人、達山正男、中村仁美. 多施設共同疫学調査における HAART の有効率. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋
 2. 矢崎博久、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島 健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一. 当院での初回療法で使用された抗 HIV 薬の変遷と DRV 投与者の経過について. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 3. 本田元人、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島 健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一. HIV 感染者における高血圧症. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 4. 柳沢邦雄、田沼順子、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島 健、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池 嘉、岡 慎一、萩原將太郎. 当科で経験した AIDS 関連悪性リンパ腫 56 例における神経系病変の検討. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 5. 西島 健、水島大輔、中村春香、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一. 日本人患者における Tenofovir disoproxil fumarate による腎機能障害. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 6. 土屋亮人、湯永博之、菊池 嘉、岡 慎一. 新規リアルタイム PCR 法(アキュジーン m-HIV-1)による HIV-1RNA 量測定 of 検討. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 7. 千田昌之、増田純一、中村真衣、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一、三上二郎. HIV 感染症薬物療法認定薬剤師研修施設としての取り組み. 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 8. 水島大輔、本田元人、中村春香、青木孝弘、西島 健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一. Warfarin と抗 HIV 薬併用症例の検討(続報、raltegravir 及び etravirine について). 第 23 回日本エイズ学会、2009 年、名古屋.
 9. 菊池 嘉. HIV 感染症: 進歩と治療. 平成 21 年度近畿ブロック都道府県・エイズ拠点病院等連絡会議、2009 年、広島.
 10. 菊池 嘉. HIV 感染症: 進歩と治療. 平成 21 年度第 2 回中国・四国ブロック都道府県・エイズ拠点病院等連絡会議、2009 年、大阪.
 11. 菊池 嘉. HIV 感染症: 進歩と治療. 平成 21 年度第 2 回中国・四国ブロック都道府県・エイズ拠点病院等連絡会議、2009 年、大阪.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

脂肪移植評価のための動物実験モデルの作成

分担研究者：

分担者氏名：山本 有平

分担者 所属・職名：北海道大学大学院医学研究科・医学部機能再生医学講座 形成外科学分野 主任教授

研究協力者：

協力者氏名：古川 洋志

協力者 所属・職名：北海道大学大学院医学研究科・医学部機能再生医学講座 形成外科学分野 講師

協力者氏名：大芦 孝平

協力者所属・職名：北海道大学大学院医学研究科・医学部機能再生医学講座 形成外科学分野 博士課程

研究要旨

HIV感染者における多剤併用療法（HAART）の開発を初めとする薬物療法は、感染者の臨床経過および予後を大きく改善してきた。しかし長期間の薬剤療法はインスリン抵抗性、脂質代謝異常、体内脂肪分布異常など新たな問題を生じてきている。体型・顔貌に関わる脂肪の蓄積異常によって引き起こるとされるLipodystrophyは、患者の生活の質（quality of life, QOL）にも大きな影響があると考えられることから、治療法の開発に関しての基盤的研究を実施する。その中でも各種の形成外科的な手法によるLipodystrophyの治療を比較・検討するための動物実験モデルの確立を目指す。

A. 研究目的

本研究は、プロテアーゼ阻害剤（protease inhibitor, PI）、核酸系逆転写酵素阻害剤（NRTI）等の長期的投与

によって引き起こされると考えられる HIV関連Lipodystrophyの治療を最終的な目標とする。HIV 関連Lipodystrophyはアメリカでの報告でHIV感染者の内 2 - 6

0%の有病率との報告があり、重要な副作用であると考えられる。

近年HAART（療法）などの多剤併用薬物療法による、延命、予後改善、臨床症状の改善を認めつつも、HIV関連Lipodystrophyの中でも特に高頻度に発生するとされる顔面皮下脂肪萎縮は顔貌の悲壯感を増強するのみならず、二次的な抑うつ状態を引き起こすとの報告もあり、長期的な副作用として、克服すべき大きな課題と考えられる。

そこで、形成外科領域の診療の特徴を生かし、過剰皮下脂肪の切除、吸引法などによる減量と脂肪細胞・組織移植による皮下組織の増量といった手法を用いて生活の質を高めるボディーイメージの確立のための臨床応用研究を提案するものである。

そのために移植方法の違いによる術後脂肪の吸収程度の確認を動物実験で検討する。脂肪移植は実際の臨床治療において、低侵襲で有効な方法と思われるものの、細胞化した脂肪は通常移植後の吸収程度が高度である。血管茎付脂肪組織移植における移植後脂肪生着効率を対照法として、血管を付けない脂肪組織移植を実施し、血流保持、血管茎付組織の定着性と再増殖性につき基礎的知見を収集する。

B. 研究方法

ラットの両側そけい部に血流を有する脂肪組織、同じものを2つ作成し、片方のみ血流を遮断した状態で腹部皮下に移植する。左右の脂肪組織は血流の有無以外の条件がまったく同じ状態で移植されたことになる。血流の状態を評価するためにインドシアニンググリーン (ICG) を用

いた蛍光造影を行った。

一定期間経過後に脂肪組織を摘出して重量を計測し、移植時の重量との変化について経時的に評価した。また、移植脂肪組織の病理組織学的な変化を検討した。脂肪組織摘出時にも ICG を用いた蛍光造影によって血流が維持されていたかどうかを確認した。

(倫理面への配慮)

実験動物使用数の削減及び苦痛を軽減し、適正に実験を行うため、国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程に基づいて実験を実施した。

C. 研究結果

ICG を用いて移植脂肪組織の血流を評価するための手技を確立できた。確立した手技を用いて、移植脂肪組織の血流を確認することに成功した。血流を確認できた移植脂肪組織の生着率を、重量の変化として経時的に計測した。

D. 考察

ICG を用いた蛍光造影は移植脂肪組織の血流評価に非常に有用であることが分かった。本実験モデルを用いて脂肪移植と血流の有無についての検討が可能であると考えられた。

E. 結論

今年度は昨年度の動物での脂肪移植モデル確立に続いて、移植脂肪組織の血流の評価方法を確立することに成功した。確立した手技を用いて移植脂肪組織の血流と生着率、組織学的変化の関係についてデータを収集しているところである。

F. 健康危機情報

なし

3. その他

なし

G. 研究発表

学会発表

1. 大芦孝平, 秋田定伯, 古川洋志, 中島正洋, 平野明喜, 山本有平: 脂肪移植方法による移植後吸収の変化の検討. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会 サテライトシンポジウム, 愛知県, 2009. 11. 26

2. 大芦孝平, 秋田定伯, 古川洋志, 中島正洋, 平野明喜, 山本有平: HIV 関連レジストロフィー克服に向けて一移植脂肪の血流と生着率の関係評価のための動物実験モデル作成. 第18回日本形成外科学会基礎学術集会 パネルディスカッション, 東京都, 2009. 10. 1

3. 大芦孝平, 秋田定伯, 古川洋志, 中島正洋, 平野明喜, 山本有平: 遊離脂肪移植と血管柄付き脂肪弁移植の生着率を評価するための動物実験モデル作成を目指して. 第36回日本マイクロサージャリー学会学術集会, 徳島県, 2009. 10. 22

4. 大芦孝平, 秋田定伯, 古川洋志, 中島正洋, 平野明喜, 山本有平: 脂肪組織移植と血流の関係についての動物実験. 第79回日本形成外科学会北海道地方会, 北海道, 2010. 2. 13

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

脂肪由来細胞の分離と細胞生物学的検討

分担研究者：山下 俊一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）

研究協力者：鈴木 啓司（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）

研究要旨

顔貌や体幹などの身体の形態構成の劇的な変貌をもたらす Lipodystrophy の効率よい安全な治療法の確立を目的に、自家脂肪細胞移植の有用性検討の基盤的研究を推進している。今回は、HIV 感染治療患者 1 例と非感染患者 4 例から得られた脂肪幹（前駆）細胞活性の差異の検討を検討した。手術検体から得られた HIV 感染治療患者由来脂肪幹細胞の *in vitro* での培養に成功し、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と細胞増殖に関わる細胞生物学的指標について比較検討を行ったところ、全ての指標において両者に差を見いださなかった。また、いずれの細胞も、脂肪細胞への高度な分化能を保持していることが明らかになった。以上の結果から、HIV 感染治療患者由来の脂肪幹細胞は、非感染者由来脂肪幹細胞と同様の細胞生物学的活性を有していることが確認された。

A. 研究目的

顔貌や体幹などの身体の形態構成の劇的な変貌をもたらす Lipodystrophy の効率よい安全な治療法の確立を目的に施行される自家脂肪細胞移植に向けての基盤的研究として、脂肪幹（前駆）細胞の身体部位の相違による細胞活性の差異の検討を目的として研究を行った。平成 21 年度は、手術標本から得られる HIV 感染患者由来脂肪幹細胞の培養系の確立と、その細胞生物学的活性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

手術検体から得られた脂肪幹細胞懸濁液

を、脂肪前駆細胞培地（DMEM/Ham's F-12（1:1,v/v）、HEPES（pH7.4）、10% FBS）あるいは霊長類 ES 細胞培養培地（ESMF）中に混和し、培養フラスコの中で、37°C、5% CO₂ を含む CO₂ インキュベータ内で培養した。継代培養は、フラスコ底面に付着している脂肪幹細胞を、0.2%トリプシン溶液にさらすことで底面から剥離させ、培養液でけん濁することにより回収し、細胞数を計測した後、一定の細胞数をフラスコに戻すことにより行った。

脂肪細胞への分化には、脂肪前駆細胞培地にビオチン、パントテン酸、インシュリン、デキサメタゾン、IBMX を添加した脂肪細胞

分化培地を使用した。まず、脂肪前駆細胞培地で、対数増殖期にある細胞を、90%コンフルエントの状態まで培養した。その後、ほとんどの細胞が分裂を停止している時期を見計らって、培地を脂肪細胞分化培地に変更した。そのまま5日間培養した後に、必要に応じて一度新しい脂肪細胞分化培地に培地交換し、さらに10日まで培養した。

細胞質中に脂肪滴が蓄積しているのを確認してから、培地を除き、PBS緩衝液で2回細胞を洗浄した後に、10%フォルマリン中で細胞を固定した。その後、PBS緩衝液でフォルマリンを除去した後に、60%イソプロパノールを添加し1分間細胞を静置した。最後に、60%イソプロパノール中に溶解したOil Red Oを細胞に加え、脂肪滴の生体染色を行った。脂肪滴の蛍光染色には、BODIPY493/503を用いた。4%フォルマリン中で10分細胞を固定した後、PBS緩衝液でフォルマリンを完全に洗浄除去し、BODIPYを溶解したPBS緩衝液を室温で20分間作用させることにより染色を行った。BODIPYによる染色は、蛍光顕微鏡下で観察することにより確認した。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、手術から得られる検体採取に際して、インフォームド・コンセントのもと、非賢者の不利益にならないように万全の対策を立て、必要があれば第三者機関を設置して、おのこの手法の妥当性を評価し、また、匿名性を保持し、データ管理に関しても秘匿性を保持した。

C. 研究結果

細胞増殖活性の比較

手術検体から無菌的に採取した脂肪幹細胞は、脂肪前駆細胞培地中で一晚培養し培養

フラスコ底面に接着させ、翌日、ESMFに交換して増殖を開始させた。HIV非感染者由来の脂肪幹細胞と同様に、HIV感染患者から採取した細胞も線維芽細胞様の形態を示し、中胚葉系の幹細胞であることが確認された。その後、ESMF培地中で培養を続けると、活発な増殖細胞が観察されるが、HIV非感染者由来の脂肪幹細胞(4種類)と、HIV感染患者由来脂肪幹細胞(1種類)とで、細胞増殖に明らかな差は認めなかった。つぎに、35mmディッシュに 1×10^4 個の細胞を植え、3日ごとに培養液を交換することにより細胞を飽和状態まで培養し、その後、培養されている全ての細胞を回収することにより細胞飽和密度を検討したが、いずれの場合もほぼ同等の値が得られた。さらに、細胞のclonogenicityをコロニー形成法により比較検討した。培養された脂肪幹細胞を回収し、細胞数を計測した後に、100個の細胞を100mmディッシュに植え、10日間そのまま培養した。その結果、単個細胞由来の細胞集団(コロニー)が形成されるが、その数を実体顕微鏡下で計測し、比較を行った。その結果、HIV非感染者由来の脂肪幹細胞でもHIV感染患者由来脂肪幹細胞でも、約30%のコロニー形成率が認められ、以上のいずれの検討でも、両者の細胞生物学的活性に差は認められなかった。

脂肪分化能の比較

脂肪幹細胞の分可能を検討する目的で、培養を開始した一部の細胞を別に22mm x 22mmサイズのカバーグラス上に培養し、脂肪前駆細胞培地中で90%コンフルエントになるまで培養を続けた。約5日目にほぼ細胞の増殖が停止したのを確認した後に、脂肪細胞分化培地に培養液を置換してさらに5日間培養を継続した。7日目までには細胞室中に微細な脂肪滴を持つ細胞が出現して、脂肪細

胞への分化が確認される。そこで、培養 10 日目に再度新しい脂肪分化培地で培養液を交換してさらに培養を行うと、初期にみられた微細な脂肪滴が徐々に拡大して大きなサイズの脂肪滴に変化していき、脂肪細胞として成熟していくのが観察される。

当初、脂肪細胞分化にともなって形成される脂肪滴は Oil Red-O 染色法により染色していたが、他の様々な蛋白質との多重染色には、Oil Red-O による染色はなじまない。そこで、疎水性蛍光物質である BODIPY を用いて脂肪滴を染色する方法の確立を試みた。その結果、フォルマリン固定した細胞を、最終的に PBS 緩衝液に溶解した BODIPY と反応させることによって、固定細胞中の脂肪滴を高感度で染色する技術を確認した。

この方法を用いて、HIV 非感染者由来の脂肪幹細胞および HIV 感染患者由来脂肪幹細胞を分化させ、両細胞の分化能の違いを比較検討した。その結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞でも、HIV 感染患者由来脂肪幹細胞でも、高度に分化が誘導されていることが明らかになった。分化細胞の出現動態や分化細胞の頻度も両方で全く差はなく、両者は全く同様の細胞分化能を有していることが確認された。

D. 考察

平成 21 年度は、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで細胞生物学的な活性の差異を比較検討することを目的に研究を行った。その結果、手術標本から得られる脂肪幹細胞は、HIV 非感染者由来であっても、HIV 感染患者由来であっても、培養環境中では同様の細胞形態を示し、細胞増殖能力に違いがあるとは予想されなかった。そこで、細胞飽和密度やコロニー形成率等の細胞増殖にかかわる指標を検討

し、両方で比較を行った。細胞飽和密度は、細胞間の接触による情報伝達を調べる指標で、正常細胞に元来備わっている細胞増殖の接触阻止能を評価できる。また、コロニー形成率の検討は、単個細胞が独立して細胞増殖を行う能力を評価できる指標で、多くの正常ヒト細胞では 30%前後の値が報告されている。検討の結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞でも HIV 感染患者由来脂肪幹細胞でも同様の細胞飽和密度およびコロニー形成率が確認され、以上の結果から、細胞増殖活性において両者に違いはないと結論付けられた。

つぎに、新たに開発した蛍光分子を用いた細胞分化評価法により、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで脂肪細胞への分化活性に差があるかどうか検討した。脂肪幹細胞から脂肪細胞への分化は、細胞増殖にともなう細胞密度の増加と、分化誘導因子との接触の 2 要因が関与する。すでに細胞増殖活性については両方で違いがないことが明らかになったため、全く同じ培養条件で、細胞分化を誘導した。その結果、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞であっても HIV 感染患者由来脂肪幹細胞であっても、細胞分化が高度に誘導されることが確認され、脂肪幹細胞の分化活性は、両方で全く同じであることが確認された。

以上の結果から、HIV 非感染者由来脂肪幹細胞と HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで、その活性を検討した全ての細胞生物学的指標において差は全く認められなかった。この結果は、Lipodystrophy の原因が、HIV 感染患者の脂肪幹細胞そのものに起因することを完全に否定するものである。すなわち、HIV 感染患者における Lipodystrophy は、脂肪幹細胞もしくは脂肪前駆細胞が、HIV 治療薬を接することによってはじめて引き

起こされることを証明するものであり、この事実はまた、Lipodystrophy の治療として、他部位から採取した脂肪幹細胞を自家移植することの有用性を支持するものでもある。今後は、脂肪幹細胞が HIV 治療薬にさらされることによって、なぜ脂肪分化の抑制が起こるのか、その分子機構を明らかにすることが急務である。

E. 結論

HIV 非感染者由来脂肪幹細胞および HIV 感染患者由来脂肪幹細胞とで細胞増殖活性および細胞分化活性を比較した結果、両者は全く同じ細胞生物学的活性を有することが明らかにされた。

F. 健康危機情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamashita S. Molecular targeted therapy for thyroid cancer in Japan. *Endocr J* 56(8):919-200, 2009

Taira Y, Yamashita S., et al., Urinary iodine concentrations in urban and rural areas around Chernobyl Nuclear Power Plant. *Endocr J* 56(2): 257-261, 2009

2. Matsuse,M., Yamashita.S., et al., Mutation analysis of RAP1 gene in papillary thyroid carcinomas. *Endocr J* 56(1): 161-164, 2009

3. Limsirichaikul.S., Yamashita.S.,et al., A rapid non-radioactive technique for measurement of repair synthesis in primary human fibroblasts by incorporation of ethynyl deoxyuridine (EdU). *Nucleic Acids Res* 37(4): e31, 2009

4. Akulevich.N., Yamashita.S., et al., Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 16(2): 491-503, 2009

5. Drozd.VM., Yamashita.S., et al., The usual ultrasonographic features of thyroid cancer are less frequent in small tumors that develop after a long latent period after the Chernobyl radiation release accident.

Thyroid 19(7): 725-734, 2009

6. Matsuse.M., Yamashita.S., et al., Lack of GNAQ hotspot mutation in papillary thyroid carcinomas.

Thyroid 19(8): 921-922, 2009

7. Suzuki K, Kashino G, Kodama S, Watanabe M: Long-term persistence of X-ray-induced genomic instability in quiescent normal human diploid cells. *Mutat Res* 671(1-2): 33-39, 2009.

8. Suzuki K, Kodama S, Watanabe M: Role of Ku80-dependent end-joining in delayed genomic instability in mammalian cells surviving ionizing radiation. *Mutat Res* 683(1-2): 29-34, 2009.

9. Ariyoshi K, Suzuki K, Goto M, Oshimura , Ishizaki K, Watanabe M, Kodama S: Introduction of a normal human chromosome 8 corrects abnormal phenotype of Werner syndrome cells immortalized by expressing an hTERT gene. *J Radiat Res* 50(3): 253-259, 2009.

10. Kobayashi Y, Funayama T, Hamada N, Sakashita T, Konishi T, Imaseki H, Yasuda K, Hatashita M, Takagi K, Hatori S, Suzuki K, Yamauchi M, Yamashita S, Tomita M,

Maeda M, Kobayashi K, Usami N, Wu L: Microbeam irradiation facilities for radiobiology in Japan and China. J Radiat Res Suppl A: A29-A47, 2009.

11. Naruke Y, Nakashima M, Suzuki K, Kondo H, Hayashi T, Soda M, Sekine I: Genomic instability in the epidermis induced by atomic bomb (A-bomb) radiation: a long-lasting health effect in A-bomb survivors. Cancer 115(16):3782-3790, 2009.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

HIV 関連リポディストロフィーにおける顔面および体幹部皮下脂肪の CT 解析に関する研究

分担研究者：上谷雅孝

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線診断治療学教授

研究要旨

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を 4 名の患者に行った。このうち 1 名は、自家脂肪組織由来幹細胞移植術が行われ、顔面 2 部位における皮下脂肪の体積測定を行い、視覚的および容積量による経時的評価を行うことができた。

A. 研究目的

HIV 関連 lipodystrophy における顔面および体幹部の皮下脂肪組織の量と分布について、64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ再構成画像（3D-CT 画像）による解析を行う。今年度は新たな解析用ワークステーションを導入し、皮下脂肪の自動抽出と容積測定解析を行い、経時的評価を行った。

B. 研究方法

対象は HIV 感染者 4 名。CT は長崎大学医学部歯学部附属病院に既設の 64 列ヘリカル CT (Toshiba 社製 Aquilion64) を使用した。撮影条件は頭～顔面～頸部までは 120kV, 300mAs, 0.5mm スライス厚で約 1200 スライス、胸部～手～足は 120kV, 350mAs, 1mm スライス厚で約 1200 スライスとした。CT データは既設ワークステーション（ザイオンソフト社製ザイオステーション）および新規ワ

ークステーション（富士フイルムメディカル社製 Vincent）に転送し、以下の解析を試みた。

- 1) CT 値による皮下脂肪の抽出
- 2) 皮下脂肪のカラー表示
- 3) 皮下脂肪の計測（厚さ、面積、体積）

2 名では富士フイルムメディカル社製 Vincent では顔面脂肪の自動抽出と容積測定を行い、顔面脂肪の経時的評価を行った。このうち 1 名は自家脂肪組織由来幹細胞移植術後で、術前、術後 1 ヶ月と 3 ヶ月の計測を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号 08070297）。対象者にはあらかじめ本研究の目的と検査の方法を十分に説明し、検査、診察、出版・公表に関する同意を得た。検査にかかる実費は研究費で負担した。

C. 研究結果

C. 研究結果

全ての症例において、閾値となる CT 値を設定することにより皮下脂肪をカラー表示することが可能であった。さらにその画像を立体表示することで、皮下脂肪の分布を視覚的に表示することができた。さらに脂肪以外の組織（皮膚、骨など）の透過度を変化させることで、これらを重ね合わせた画像を作成することが可能で、皮下脂肪と周囲組織との関連を評価することができた。

自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の患者 1 名では顔面の皮下脂肪の評価では頬部と側頭部の皮下脂肪に分けて皮下脂肪容積の測定を行い、術前 3.82ml（頬部 0.075ml、側頭部 3.74ml）、術後 1 ヶ月 3.08ml（頬部 0.323ml、側頭部 2.76ml）、術後 3 ヶ月 3.18ml（頬部 0.359ml、側頭部 2.82ml）であった。

D. 考察

リポディストロフィーの治療法の確立には、皮下脂肪の体積や分布を正確に評価することが必要である。二次元の CT 断面を用いた評価の報告（Honda M, et al. Intern Med 2007;46:359-62.）があるが、スライス位置、スライス角度、測定部位による測定のばらつきが生じる可能性が高く、正確な評価には適さない。近年普及しているマルチスライスヘリカル CT は薄いスライスですきまのないデータ（volumetric data）が得られ、再現性が高い測定を行うことができる。最近開発された 64 列ヘリカル CT はより高速で広範囲の撮像が可能だけでなく、X 線被曝も低減が図られている。

今回は前年度に引き続き 64 列ヘリカル CT で得られたデータによる皮下脂肪解析を

4 名に行った。新たなワークステーション使用により、簡便な解析が可能になったが、まだ症例が少なく、再現性の検討や閾値の適切な設定の検討が不足している。自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の解析では、頬部の皮下脂肪にわずかな増加が認められたが、これが有意なものかどうかについては今後の検討が必要である。

E. 結論

64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ解析により、皮下脂肪を自動抽出し、容積測定を行った。術後の経時的変化を評価するには再現性の検討が必要である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1) Fujikawa K, Kawakami A, Tamai M et al: High serum cartilage oligomeric matrix protein determines the subset of patients with early-stage rheumatoid arthritis with high serum C-reactive protein, matrix metalloproteinase-3, and MRI-proven bone erosion. J Rheumatol 36: 1126-1129, 2009

2) Tamai M, Kawakami A, Uetani M et al: A prediction rule for disease outcome in patients with undifferentiated arthritis using magnetic resonance imaging of the wrists and finger joints and serologic autoantibodies. Arthritis Rheum 61: 772-778, 2009

3) 上谷雅孝, 他:【早期リウマチ】早期関節リウマチの MRI 診断. 整形・災害外科 52: 1169-1177, 2009

4) 上谷雅孝: 目でみるシリーズ MRI による関節リウマチの評価 Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology 3:

120-125, 2009

2. 学会発表

1) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: Early Therapeutic Intervention Toward Patients in Undifferentiated Arthritis with MEI-Proven Bone Changes and Autoantibodies by Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARDs): Nagasaki Early Arthritis Intervention Trial, EULAR 2009, Copenhagen, Denmark, 2009

2) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: A Prediction Rule for Disease Outcome in Patients with Undifferentiated Arthritis Using MRI of Wrists and Finger Joints and Serologic Autoantibodies, EULAR 2009, Copenhagen, Denmark, 2009

3) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, et al: A Prediction Rule for Disease Outcome in Patients with Undifferentiated Arthritis by MRI of the Wrists and Finger Joints and Serologic Autoantibodies: Second Report Regarding to the Utility of Plain MRI. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 2009.

4) 上谷雅孝:教育講演 関節リウマチのMRI. 日本医学放射線学会学術集会, 2009

5) 玉井慎美, 川上純, 上谷雅孝, 他: シンポジウム 画像診断 2 早期関節リウマチにおける非造影手関節 MRI の有用性の検討. 日本リウマチ学会総会・学術集会, 2009

6) 玉井慎美, 川上純, 上谷雅孝, 他: 診断未確定関節炎の評価. 日本リウマチ学会総会・学術集会, 2009

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

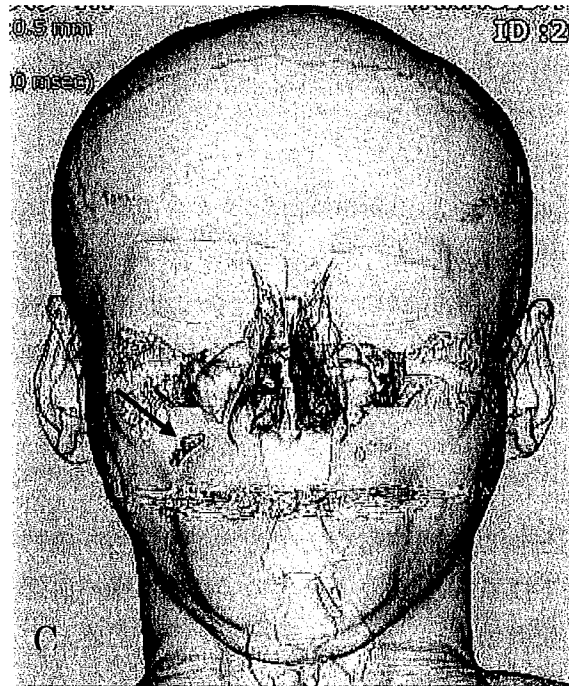
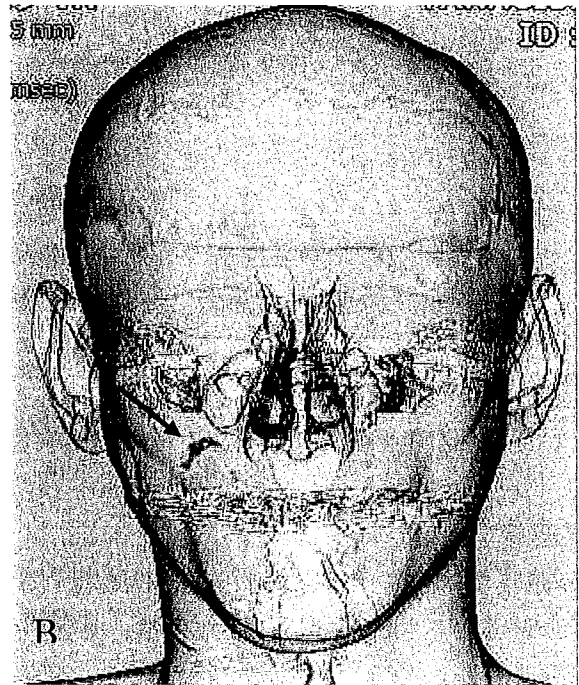
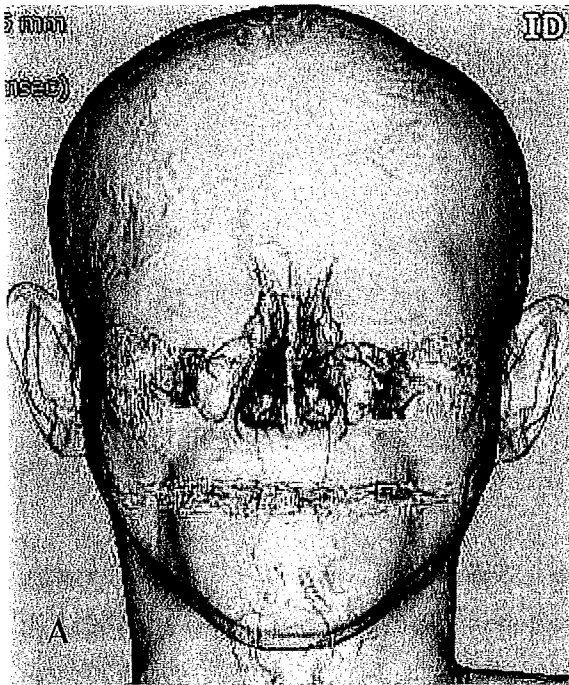


図 自家脂肪組織由来幹細胞移植術前後の顔面皮下脂肪の変化。A: 術前、B: 術後 1 ヶ月。C: 術後 3 ヶ月
頬部および側頭部の皮下脂肪をカラー表示した。右頬部（鼻唇溝）の脂肪が術後に増加していることがわかるお（→）。

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 21 年度 分担研究報告書

分担研究タイトル

- I. 血管茎付遊離脂肪移植術の有効性、demerit の臨床的検討
- II. 血友病治療関連 HIV 患者に対する 一般総合病院における術後管理の問題点

分担研究者：藤岡正樹

国立長崎医療センター形成外科医長、長崎大学医学部非常勤講師

研究要旨

I. HIV感染者に合併するLipodystrophyに対する治療法を研究する一環として、現時点で実際に行われている脂肪移植、脂肪注入法、血管茎付遊離脂肪移植術の有効性、demeritを臨床的に検討した。このうち最も広く行われている血管茎付遊離脂肪移植術は手術の成功率が94%と必ずしも安定した成績を残せないうえ、移植脂肪も厚さにして17.5%委縮することが判明した。本術式は現時点では最も有用な治療方法ではあるものの手術侵襲の大きさや、成功率、有効性から考慮するとbest choiceとはいいがたい一面を持つ。

II. 今回薬剤関連 HIV 感染者に合併する Lipodystrophy に対し脂肪幹細胞移植法を長崎大学において実施した。薬剤関連 HIV 感染者には血友病や可燃を併発している患者が多く、手術を施行するにあたって周術期管理に特別な配慮を要する。一般病院においてこれらの血友病治療関連 HIV 患者に対する術後管理の問題点について検討した。一般病院で血友病関連 HIV 感染患者の外科的治療を行うことは十分に可能であるが、十分な術後出血管理と看護、薬剤供給面での周到な準備 が必須であった。

I. 血管茎付遊離脂肪移植術の有効性、demerit の臨床的検討

A. 研究目的

軟部組織の欠損や委縮で潰瘍や陥凹変形が生じた場合単純に脂肪組織を充填する脂肪移植では血行が乏しいために脂肪壊死、吸収が起こるため期待する量の組織が全く充填できない。これに対して、脂肪組織を栄養血管をつけたまま切離し、移植先近傍の血管に顕微鏡下に血管吻合する手法は遊離血管柄付脂肪組織移植

(free flap) と呼ばれ、現時点では最も一般的な手技である。ところがこの手術法は微小血管を顕微鏡下で縫合する高度な技術を必要とする難易度の高いものであり、血栓形成などのため稀に皮弁壊死に陥ることがある。また本法ではこれまでは移植後の脂肪組織の委縮は少ないとされてきたが遊離皮弁移植後の脂肪萎縮を検討した研究はなかった。今回は「HIV 関連 Lipodystrophy の治療方法の確立」を目指す一環として、現状の治療の有効性と安全性の検討を行った。

B. 研究方法

国立病院機構長崎医療センター形成外科で2004年4月からの2009年3月までの5年間で100名の頭頸部癌患者に対して広範囲切除後遊離皮弁による再建を行った。患者の年齢は26から82歳(mean age, 62.1)であった。原疾患は100例すべて悪性腫瘍で、咽頭癌と舌口腔底癌で75%を占めていた(Figure 1)。再建材料の皮弁の種類は筋皮弁が一番多く次いで遊離空腸、筋膜皮弁であった。これ等の症例について、皮弁壊死、合併症の頻度を調査しその原因を検討した。

またこれらのうち、術後のCT, MRIによる十分な長期経過観察ができた19例(mean age of 50 years, range 26-74 years)について、皮弁内の脂肪組織の厚さを計測し萎縮の度合い検討した

(倫理面への配慮)

研究の遂行に当たり、画像収集、手術から得られる検体採取に際して、インフォームド・コンセントの下、被験者の不利益にならないよう対策を立て、必要があれば第3者機関を設置して、各々の手法の妥当性を評価していただいた。匿名性を保持し、被験者の不利益にならないよう十分配慮し、データ管理についても秘匿性を保持している。

C. 研究結果

術後全皮弁壊死をきたしたものは6例(6%)、11例(11%)に術後の瘻孔・潰瘍形成をきたした。皮弁壊死の頻度に差異があるか、1. 原疾患別、2. 化学療法の有無、3. 選択した皮弁の種類、4. 放射線療法の有無を検討したが、術前放射線照射を受けた群が有意に高い頻度で皮弁壊死を起こしていた。(p<0.01, Cchi-square test). 中には術後内頸動脈破裂(Carotid blowout syndrome)を起こしショッ

ク状態をきたす重症合併症例もあった。

遊離皮弁内の脂肪組織は約半年の経過で萎縮し、17.1%薄くなることが判明した。この傾向は放射線を照射された症例でさらに顕著で29.0%の萎縮を認めている。いずれの場合も周囲の献上脂肪組織と有意差を持って萎縮していることが分かった。

D. 考察

現時点では組織欠損や、変形に対するgolden standardである遊離組織移植術は、必ずしも容易で安全な手技ではなく、しばしばunfavalable resultに陥ることが分かった。また、幸いにして成功した移植脂肪も安定した容積を保つわけではなく厚さにして明らかな萎縮を認めた。

E. 結論

現行ではgolden standardである遊離脂肪組織移植術は、必ずしも容易で安全な手技ではなくまた長期安定した結果を保てるわけではない。ドナーの犠牲を最小限にし、より安全に、また合併症にリスクを減らす軟部組織再建方法の出現が渴望されるが、脂肪幹細胞を用いた移植方法は従来にない全くユニークな手技であり、その臨床応用が強く望まれる。

II. 血友病治療関連H I V患者に対する一般総合病院における術後管理の問題点

A. 研究目的

血友病治療関連合併症としてのH I V患者が、外科的治療を受ける場合には、術中・術後出血、H I V治療剤の服薬、感染予防などの注意が必要になる。また一般病院での術後管理では、看護師への教育や患者への接遇態度、日ごろ馴染みの薄い薬剤の調達などの業務面の準備も欠かせない。今回、HIV関連Lipodystrophyに対

して脂肪幹細胞移植手術を他施設で行った患者を、術後3週間目から術後出血予防目的に入院加療した。血友病関連HIV患者が一般病院で外科治療を受ける際の問題点注意点について考察した。

B. 症例

診断：血友病A，HIV陽性、HCV陽性（血友病関連ウイルス感染症）脂肪萎縮（抗HIV関連リポジトローフィー）

既往歴・現病歴：出生時より血友病A治療でⅧ因子製剤の投与を受けていた。1988年HIV陽性と診断を受けた。

1996年AIDS発症。1999年からHARTT療法開始。2007年からはAYV+EZCでコントロール中。2000年ころから顔面・四肢の脂肪萎縮に気づく。2009年長崎不大学で顔面のリポジトローフィーに対して脂肪幹細胞移植を受けた。

C. 入院後の経過

第Ⅷ因子製剤 アドベイド 1000 単位・2 回/週自己注射していたが、歯槽出血や、膝関節痛が頻発した。術後の創出血は経過中認められなかった。

D. 考察

術直後は良好に経過していても28日目に術後出血をきたした報告もあり、血友病患者の手術後は4週間程度の注意深い観察が望ましい。また創傷治癒機転については、血友病患者では創面での血管新生が著しく亢進しているにもかかわらず、創治癒が遷延することが知られている。血友病患者の術後創治癒については、まだ解決されていない問題が多い。抗HIV薬、第Ⅷ因子製剤は血友病関連 HIV 患者には必須であるが、一般病院での需要は必ずしも多くなく事前に入荷する必要がある。看護面では1. 外

科病棟での血液疾患の管理 2. HIV 患者への知識不足による偏見 3. 院内感染予防 が問題となるが、今回は患者受け入れ前のカンファレンスと勉強会を行うことで、問題なく解決できた。HIV の院内感染に関しては Standard Precaution で 十分に対応可能であった。

E. 結論

一般病院で血友病関連 HIV 感染患者の外科的治療を行うことは十分に可能であるが、

①十分な術後出血管理

②看護、薬剤供給面での周到な準備が必須である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Masaki F, Isao T, Seiji H, Youich H, Shinsuke F, Hayato T. Revival From Deep Hypothermia After 4 Hours of Cardiac Arrest Without the Use of Extracorporeal Circulation. *J Trauma*. 2009;69 (5) E173-175.
2. Masaki Fujioka. Treatment of Cervical Fistulae After Microsurgical Reconstruction Following Radical Ablation of Head and Neck Cancers. *Handbook of Pharyngeal Diseases: Etiology, Diagnosis and Treatment*. Nova Science Publishers NY 2010. in press
3. Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Kitamura Riko, Yakabe Aya. Complex wounds tend to develop more rapidly in patients receiving hemodialysis because of diabetes mellitus *Hemodial Int*. Apr;13(2):168-71. 2009.
4. Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Yakabe Aya, Kitamura Riko. Immediate radical fang mark ablation may allow treatment of Japanese viper bite without

- antivenom. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* V.15, n.1, 168-178, 2009.
5. Fujioka Masaki. Artificial dermis: A new material for wound treatment. *JOURNAL OF WOUND TECHNOLOGY.* No. 4 APRIL 13-19. 2009
 6. Fujioka Masaki. Combination treatment with basic fibroblast growth factor and artificial dermis improves complex wounds caused by collagen diseases with steroid use. *Dermatologic Surgery* 35 (9): 1422-5, 2009
 7. Masaki Fujioka, Kiyoshi Oka, Aya, Yakabe, Riko Kitamura. Cervical osteomyelitis and epidural abscess treated with a pectoralis major muscle flap. *Surg Neurol.* 72..2009. 761-4
 8. 藤岡正樹：人工真皮の応用. 治療. 特集創傷治療 91 (2) 289-294, 2009. 南山堂、東京
 9. 藤岡正樹, 増田佳奈, 今村禎伸. 遊離皮弁による頭頸部再建 100 例中の unfavorable result の検討 国立病院機構長崎医療センター雑誌 12 巻 1 号: 2010 (Submitting)
 10. Fujioka M, Masuda K, Imamura Y. Fatty tissue atrophy of microsurgical free flap using for head and neck reconstruction. *plast reconstr.surge.* (Submitting)
2. 学会発表
- 1) 藤岡正樹, 岡潔, 北村理子, 矢加部文. 糖尿病性腎症から透析に至った患者に生ずる四肢の創は早期に発生し、急激に進行する. 第 1 回日本創傷外科学会総会・学術集会 2009. 1. 16-17 (東京)
 - 2) Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Yakabe Aya., Kitamura Riko. Evaluation and treatment of cervical fistulae after microsurgical reconstruction following radical ablation of head and neck cancers.. The 19th Annual Wound Healing Society Meeting and Exhibition, April 26 - 29, 2009 (Dallas USA)
 - 3) Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Yakabe Aya., Kitamura Riko. Evaluation of nutrition in the healing of pressure ulcers: Are the nutrition guideline sufficient to heal wounds? The 19th Annual Wound Healing Society Meeting and Exhibition, April 26 - 29, 2009 (Dallas USA)
 - 4) 遊離皮弁で頭頸部再建したのちに頸部瘻孔を形成するのは面目ない。何故か。その touch up は。藤岡正樹、岡潔、北村理子、矢加部文. 第 87 回長崎形成外科懇話会 2009/5/16 (長崎)
 - 5) CRP 1 7 以上を呈した重症感染褥瘡の検討. 藤岡正樹、北村理子. 第 11 回日本褥瘡学会総会 2009/9/4. 5 (大阪)
 - 6) Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Yakabe Aya., Kitamura Riko. Complex wounds tend to develop more rapidly in patients receiving hemodialysis because of diabetes mellitus. The 10th Congress of the International Confederation for Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery-Asian Pacific Section. 2009/10/8-10 (Tokyo)
 - 7) Fujioka Masaki, Oka Kiyoshi, Yakabe Aya., Kitamura Riko. TCervical osteomyelitis and epidural abscess treated with a pectoralis major muscle flap he 10th Congress of the International Confederation for Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery-Asian Pacific Section. 2009/10/8-10 (Tokyo)
 - 8) 藤岡正樹, 増田佳奈, 今村禎伸. 遊離皮弁による頭頸部再建 100 例中の unfavorable result の検討. 第 81 回日本形成外科学会九州支部学術集会 2009. 10. 17. (宮崎)
 - 9) 藤岡正樹, 増田佳奈, 今村禎伸. 牙痕部早期切除により抗毒素血清を使用せずに治癒することができたマムシ咬傷の治療経験. 第 63 回 国立病院総合医学会 2009. 10. 23-24 (仙台)
 - 10) 藤岡正樹, 増田佳奈, 今村禎伸. 重症創感染症を併発した褥瘡の検討. 国立病院機構長崎医療センター形成外科. 第 63 回 国立病院総合医学会 2009. 10. 23-24 (仙台)
 - 11) 藤岡正樹, 増田佳奈, 今村禎伸. 劇症軟部組織感染症において CRP と WBC の乖離は炎症の遷延化