

に関するアンケート調査結果. 第 24 回  
日本エイズ学会学術集会・総会、2010  
年、東京.

5) 矢倉裕輝、櫛田宏幸、吉野宗宏、桑原健、  
米本仁史、小川吉彦、坂東裕基、矢嶋敬  
史郎、笠井大介、谷口智宏、渡邊大、西  
田恭治、上平朝子、白阪琢磨：ST 合剤  
の先発、後発医薬品の品質評価および過  
敏症の発現頻度に関する比較検討. 第  
24 回日本エイズ学会学術集会・総会、  
2010 年、東京.

6) 矢倉裕輝、櫛田宏幸、吉野宗宏、桑原健、  
米本仁史、小川吉彦、坂東裕基、矢嶋敬  
史郎、笠井大介、谷口智宏、渡邊大、西  
田恭治、上平朝子、白阪琢磨：Darunavir  
の 1 日 1 回投与法におけるトラフ濃度  
と副作用に関する検討. 第 24 回日本エ  
イズ学会学術集会・総会、2010 年、東  
京.

7) 矢倉裕輝、赤崎晶子、金子恵子、柴田  
麻由、寺岡麗子、北河修治、櫛田宏  
幸、吉野宗宏、山内一恭、本田芳久、  
小森勝也、上平朝子、白阪琢磨、栗  
原健：Efavirenz 製剤における剤形間の  
溶出挙動に関する比較検討. 第 20 回日  
本医療薬学会・総会、2010 年、東京.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 年度 分担研究報告書

独立行政法人 国立国際医療研究センター病院 エイズ治療・研究開発センターにおける  
HIV 関連リポディストロフィーの臨床分類について

菊池 嘉（独立行政法人国立国際医療研究センター病院 エイズ治療・研究開発センター（ACC））

## 研究要旨

国立国際医療研究センターに定期的に通院中の 94 名の HIV 陽性血友病患者の内服歴と、顔面リポディストロフィーの実態調査を行った。今年度の調査期間中に、規則的に内服を継続している患者は 84 名で、全例が核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴があり、プロテアーゼ阻害剤は 89%、非核酸系逆転写酵素阻害剤は 69% の使用経験があった。薬剤の使用状況から、いわゆる d-drugs によりリポディストロフィーが発生した可能性が高いが、プロテアーゼ阻害剤や非核酸系逆転写酵素阻害剤がそれを助長した可能性も否定できない。また、顔貌の調査は、報告書作成段階の 3 月上旬現在で調査途上であるが、少なくともほぼ全症例で顔面のリポディストロフィーは存在しており、今後とも厳重な経過観察と、本研究班の形成外科的な成果である、手術による治療にも期待が持たれるところである。

### A. 研究目的

抗 HIV 療法の改良が重ねられて、服薬錠数が減少し、服薬回数も少なくなる傾向が進み、闘病環境は 1990 年代の終わり頃に比較すると格段に改善した。嘔気・嘔吐、下痢、頭痛などは初期の頃の薬剤にはつきものの副作用であったが、乳酸アシドーシスやリポディストロフィーといった、薬剤が世の中に登場したときには予想もされていなかった副作用の出現は、古くから治療を始めた患者さんに衝撃を与えたことはいまでもなく、処方した医療者にもまた衝撃であった。なかでもリポディストロフィーは顔貌の変化も伴ってしまうため、内服継続のモチベーションも下げってしまう厄介な有害事象である。

リポディストロフィーは当初、プロテアーゼ阻害剤が原因であろうという見方も多かったが、次第にいわゆる d-drugs (ddI, ddC, d4T など) が原因として可能性が高いということが

わかり、それも乳酸アシドーシスとの関連などから示唆されて分かるようになってきた。

国立国際医療研究センターのエイズ治療・研究開発センター（ACC）に通院する HIV 感染を起こしている血友病患者の中で、どれだけの薬剤が過去に使われていたかを後方視的に調査し、リポディストロフィーとの関連を調査する。

### B. 研究方法

国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターに 2010 年度に定期通院中の 94 名の血友病関連疾患合併 HIV 感染患者を対象とし、過去の服薬履歴を全数調査した。

診療録でさかのぼれる範囲で、使用薬剤を全数チェックした。

また、報告書作成段階でまだ未完成であるが、参考文献（1）に基づいて患者の顔貌を客観的に評価し、どの程度のリポディストロ

フィーが存在しているのかの調査もおこなう準備中である。報告書作成の3月上旬現在で、倫理審査の最終審査が控えており、正確な評価は別途報告せざるを得ない。

(倫理面への配慮)

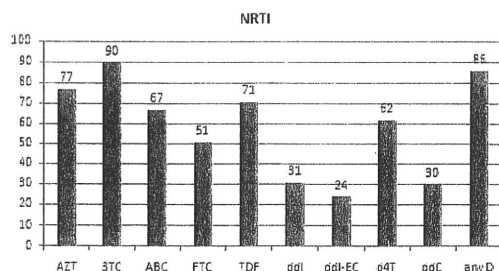
使用薬歴を調査することに関しては、服薬の有無のみを調査するのも出あるため個人情報秘匿された状態で扱われ、倫理的な問題は無いと考えた。一方、HIV感染者の顔貌を調査する検討も含んだため、国立国際医療研究センターの倫理審査に欠けると共に、臨床研究の指針やヘルシンキ宣言に則って、個人情報の管理には十分に留意する。顔貌の変化については、臨床経過をある程度客観的に審査するための、臨床行為の一部であると考えられるが、顔貌を取り扱うことで、特に厳格に行うことを可否を倫理委員会へ問う形で申請中である。

### C. 研究結果

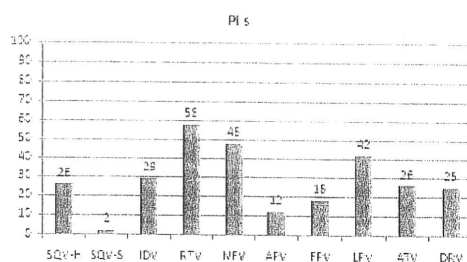
平成22年度に通院歴のある血友病患者は94名であり、2年間以上継続内服を行っている患者はそのうち84名であった。84名全員が何らかの核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴があり、このうちいわゆるD-durgs(ddI, ddI-EC, ddC, d4Tのいずれか)の使用歴は71人(85%)であった。プロテアーゼ阻害剤の使用歴は75人(89%)、非核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴は58名(69%)であった。

各薬剤の使用状況は結果1から3に示す。

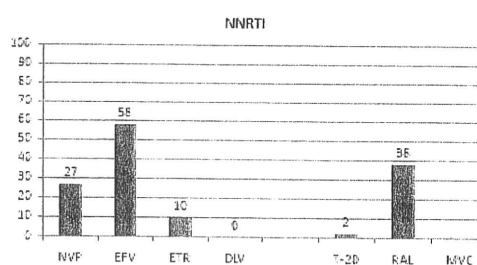
結果1 NRTI N = 84



結果2 プロテアーゼ阻害剤 N = 84



結果3 NNRTI その他 N = 84



今回調査した84名の血友病患者の平均薬剤経験数は、現在使用中のものも含めて8.7剤となっており、多くの患者が多種の薬剤を使わなければならなかった病歴が明らかにされた。なかにはひとりで、17種類の薬剤を使用した病歴のある場合もあり、薬剤治療とのかかわりの深さが伺われた。

核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴は実に100%であり、プロテアーゼ阻害剤使用者は89%、非核酸系逆転写酵素阻害剤使用者は69%であり、いずれも高かった。

Benjamin Acherらが2006年 *Dermatology of Surgery* 誌の32巻で発表した *Full scope of effect of facial lipotrophy: A framework of disease understanding* のなかで顔面のリポアトローフィーを5段階に分類しているが、来院患者の同意を得てから同論文の診断基準に基づき各患者の程度を判断して、リポアトローフィーの程度を今後主治医と担当看護師および本人の3者から判断する予定であるが、少なくともGrade1の最も軽微な変化以上のリポアトロー

イーは生じていると思われる。今後、2011年3月の当センターの倫理審査を経て実際に実施し、最終報告を纏める予定である。

#### D. 考察

ほぼ全例の症例で、リポアトロフィーは有しているところであり、使用薬剤歴は多岐にわたっており、どの薬剤が最もその発生に寄与したかについては断言できかねるが、報告されている原因薬との関係からは、いわゆるD-drugsの関与が今回調査した血友病関連患者の85%に使用されており、その関与は大きいと考えられた。全国の各施設での血友病関連患者の実態を調査することで、リポアトロフィーの程度を把握することが出来れば、今後形成外科的な適応者の数の算定に役立てられると思われる。

#### E. 結論

今回の横断的な調査で1990年代から治療を開始したHIV陽性血友病患者にはリポアトロフィーが根深く関わっていることが明らかになった。当時の薬剤ラインナップからすると使わざるを得ない薬剤であり、免疫能の維持のためには欠かせない状況であったが、2000年代になり徐々に、他剤への変更も可能な状況となり、各主治医の記録には、薬剤変更で顔貌の変化、体系の変化が回復することを期待する記載も散見された。しかしながら、原因と目されるd-drugsを中断した今も尚、リポアトロフィーは残存しており、心的な負担を背負いながら闘病を続けている患者さんの記録に触れて、改めて敬意を評したいと感じた。当研究班で実施した、形成外科的な手術での経過を追いながら、適切な治療法の選択を今後とも模索して行くところである。

#### F. 健康危機情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

菊池 嘉

##### 1. 論文発表

原著論文による発表

欧文

1) Miyagaki T, Sugaya M, Yokobayashi H, Kato T, Ohmatsu H, Fujita H, Saeki H, Kikuchi Y, Tamaki T, Sato S. High Levels of Soluble ST2 and Low Levels of IL-33 in Sera of Patients with HIV Infection. J Invest Dermatol. 2010 Dec 9. [Epub ahead of print]

2) Takarabe D, Rokukawa Y, Takahashi Y, Goto A, Takaichi M, Okamoto M, Tsujimoto T, Noto H, Kishimoto M, Kaburagi Y, Yasuda K, Yamamoto-Honda R, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kajio H, Kikuchi Y, Oka S, Noda M.

Autoimmune diabetes in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2010 Aug;95(8):4056-60. Epub 2010 May 19.

和文

1) 菊池 嘉. 成人・高齢者におけるHIV/AIDSの臨床像の変貌 日本臨床. 68:439-443, 2000.

##### 2. 学会発表

国内

1) 菊池 嘉、遠藤 知之、南 留美、伊藤俊広、田邊嘉也、上田幹夫、横幕能行、渡邊 大、藤井輝久、宮城島拓人、

健山正男、中村仁美. 多施設共同疫学調査における HAART の有効率 2009. 日本エイズ学会、2010 年、東京.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

##### 1.特許取得

無し

##### 2.実用新案登録

無し

##### 3.その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 年度 分担研究報告書

HIV 関連リポディストロフィー克服に向けた動物基礎実験

研究分担者 山本有平（北海道大学大学院医学研究科形成外科教授）

研究協力者 古川洋志（北海道大学大学院医学研究科形成外科講師）

研究協力者 大芦孝平（北海道大学大学院医学研究科形成外科）

## 研究要旨

従来より形成外科領域では体表面の変形に対する治療として自家脂肪組織の移植が行われており、多数の患者に対して恩恵を与えてきた。通常、移植された自家組織が生着するには十分な機能的血流によって栄養されていることが条件となる。血流を有さない状態で移植された脂肪組織は、移植後変性や萎縮を来すことが臨床の場では以前より認識されている。

移植された自家脂肪組織の移植後変化と血流との間に密接な関係があることは、臨床の場では古くから認識されていたものの、それに関する生体内での基礎的なデータはほとんど示されていなかった。今回われわれは動物を用いて、生体内での自家脂肪組織の移植後変化と血流の関係についての基礎的なデータを収集することを目的として実験を行った。

Wistar ラット（11 週齢、雌）を用いて、イソフルレンの吸入によって全身麻酔をかけて実験を行った。ラットの両側そけい部に、血流を有する脂肪組織を左右で一ヶずつ作成し、一方はそのまま血流を維持した状態で、もう一方は血流を遮断した状態で腹部皮下に移植した。血流の状態を評価するためにインドシアニングリーン（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、移植後 24 週までの間でその変化を検討した。

摘出した脂肪組織の重量を測定し、移植した時点で測定しておいた重量との比率を求めたところ血流のある脂肪組織の重量は、移植後 4 週で移植時の半分以下にまで減少した。その後期間の経過に伴って重量が増加し、移植後 24 週の時点では約 6 割程度の重量となっていた。一方血流の無い脂肪組織は移植後 4 週では血流のある脂肪組織と同様に移植時の半分以下の重量となっていたが、その後は期間の経過とともに重量は更に減少し、移植後 24 週の時点では 2 割程度にまで減少した。移植後 12, 16, 20, 24 週では血流の有無によって重量の変化に統計学的有意差がみられ、8, 16, 20 週で血流有と無の間に統計学的有意差を認めた。

血流の無い状態で移植された脂肪組織は移植後にはその重量が移植時の 2 割程度まで減少していた。病理組織学的には虚血により壊死に陥った脂肪組織が線維化し、瘢痕組織に置換されている所見がみられた。生着した 2 割の重量もその内容はほぼ瘢痕組織であった。

一方で血流を維持した状態で移植した脂肪組織は、病理組織学的には変性はほとんど起こっていなかったにも関わらず、重量は移植時のおよそ半分まで減少していた。移植された自家脂肪組織の移植後変化と、血流の有無についての関係性を示す、更なるメカニズムの解明が必要と考えられた。

## A. 研究目的

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。

以前より形成外科領域では体表面の変形に対する治療として自家脂肪組織の移植が行われており、多数の患者に対して恩恵を与えてきた。通常、移植された自家組織が生着するには十分な機能的血流によって栄養されていることが条件となる。血流を有さない状態で移植された脂肪組織は、移植後変性や萎縮を来すことが臨床の間では以前より認識されている。変性や萎縮を防ぐために機能的血流を有する状態で脂肪組織を移植することも可能であるが、手技が難しく手術侵襲が大きいと、適応に関しては慎重な検討を要する。

移植された自家脂肪組織の移植後変化と血流との間に密接な関係があることは、臨床の間では古くから認識されていたものの、それに関する生体内での基礎的なデータはほとんど示されていなかった。今回われわれは動物を用いて、生体内での自家脂肪組織の移植後変化と血流の関係についての基礎的なデータを収集することを目的として実験を行った。

## B. 研究方法

Wistar ラット(11 週齢、雌)を用いて、イソフルレンの吸入によって全身麻酔をかけて実験を行った。ラットの両側せけい部に、血流を有する脂肪組織を左右で一ヶずつ作成し、一方はそのまま血流を維持した状態で、もう一方は血流を遮断した状態で腹部皮下に移植した。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、移植後 24 週までの間でその変化を検討した。検討項目としては

①病理組織学的変化: 移植脂肪組織の病理組

織学的な変化を検討した。

②重量の変化: 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。

の 2 項目を設定し、結果を統計学的に解析した。

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ことを確認した。脂肪組織の表面積が移植後の変化に与える影響を同時に検討するため、表面積の異なる 2 つのモデル(sheet type と roll type)で実験を行った。Roll type は脂肪組織を丸めることにより、そのまま移植した sheet type と比較して表面積を約 50%に減少させることができる。

(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

①病理組織学的変化について

一定期間経過後に移植した脂肪組織を摘出し、4%パラホルムアルデヒドで固定後パラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色した後、顕微鏡で観察した。

血流のある脂肪組織では移植後期間が経過しても脂肪組織の構造がよく保たれていた。それに対して血流の無い脂肪組織では、移植後期間の経過に伴って、脂肪細胞の間に線維性の組織が増生し、最終的にはほぼ癒痕組織に置換されていた。

②重量の変化について

摘出した脂肪組織の重量を測定し、移植した時点で測定しておいた重量との比率を求めた。移植時との脂肪組織の重量比を体重の変化率で除すことで、collective weight ratioを計算した。

Sheet type に関しては、血流のある脂肪組織の重量は、移植後 4 週で移植時の半分以下にまで減少した。その後期間の経過に伴っ

て重量が増加し、移植後 24 週の時点では約 6 割程度の重量となっていた。一方血流の無い脂肪組織は移植後 4 週では血流のある脂肪組織と同様に移植時の半分以下の重量となっていたが、その後は期間の経過とともに重量は更に減少し、移植後 24 週の時点では 2 割程度にまで減少した。移植後 12, 16, 20, 24 週では血流の有無によって重量の変化に統計学的有意差がみられた (paired T-test)。

Roll type でも重量の変化は sheet type とほぼ同様の傾向がであった。8, 16, 20 週で血流有と無の間に統計学的有意差を認めた。

#### D. 考察

血流の無い状態で移植された脂肪組織は移植後にはその重量が移植時の 2 割程度まで減少していた。病理組織学的には虚血により壊死に陥った脂肪組織が線維化し、瘢痕組織に置換されている所見がみられた。生着した 2 割の重量もその内容はほぼ瘢痕組織であったので、脂肪組織としてはほとんど生着しなかったことになる。

一方で血流を維持した状態で移植した脂肪組織は、病理組織学的には変性はほとんど起こっていなかったにも関わらず、重量は移植時のおよそ半分まで減少していた。そのメカニズムに関しては今後検討していく必要があると考えられる。

#### E. 結論

移植された自家脂肪組織の移植後変化と、血流の有無についての関係性を示す、生体内での基礎的なデータを収集できた。今回示されたデータは、従来の脂肪組織移植に対する認識とは異なるものであった。今後は更なるメカニズムの解明が必要と考えられた。

#### F. 健康危機情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

原著論文による発表

1) Furukawa H, et al: Microsurgical Lymphaticovenous Implantation Targeting Dermal Lymphatic Back-flow using Indocyanine Green Fluorescence Lymphography in the Treatment of Postmastectomy Lymphedema. *Plast Reconstr Surg.* in press

2) Furukawa H, et al : Tailored Excision of In-Transit Metastatic Melanoma Based on Indocyanine Green Fluorescence Lymphography. *European J Plast Surg.* in press.

3) Furukawa H, Sasaki S, Oyama A, et al. Ethanol sclerotherapy with 'injection and aspiration technique' for giant lymphatic malformation in adult cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010.

4) Furukawa H, Sasaki S, Yamamoto Y. Aesthetic correction of postoperative pectoral deformity after minimally invasive funnel chest repair. *Plast Reconstr Surg* 2010; 125: 125e-7e.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

無し



厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 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

研究分担者 山下 俊一

（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻分子診断学分野 教授）

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放射線医療科学専攻分子診断学分野 准教授）

## 研究要旨

平成 22 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を用いた HAART 薬剤による細胞障害惹起の分子機序の解明を目指した。手術検体から得られた脂肪組織由来幹細胞懸濁液を、霊長類 ES 細胞培養培地（ESMF）に混和し、タイプ I コラーゲンをコートした培養フラスコに播種し、37℃、5%CO<sub>2</sub> の条件で培養した。細胞の継代培養は、接着増殖している細胞を 0.2%トリプシン処理により浮遊させ、細胞数を計測した後、一部の細胞を再び培養フラスコに播種して行った。Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が治療薬に曝露されることによって起こる特異な現象である可能性を、最近臨床での使用例の増加が顕著な、プロテアーゼ阻害剤（PI）の 1 つである ATV を用いて検証した。脂肪幹細胞から脂肪細胞への分化は、細胞増殖期のみならず ATV が存在した群では、細胞増殖への作用も含め、何ら影響は認められなかった。一方、全ての時期で ATV が存在した場合には、脂肪細胞分化が顕著に抑制されることが明らかになり、ATV により確認された脂肪細胞分化の抑制効果は、細胞密度が飽和に達し、分化誘導因子が作用する以降のプロセスで発現することがわかった。

この際、ATV を作用させた細胞に特徴的な現象として、細胞の断片が多数観察されたため、アポトーシスによる細胞死が誘導されていることが考えられた。そこで、アポトーシスにともなう DNA の断片化を DNA 損傷マーカーを応用して確認したところ、ATV の濃度依存的なアポトーシス陽性細胞の増加が確認され、ATV による脂肪細胞分化抑制は、細胞分化プロセスに同期した細胞死誘導の増強によるものであることが証明された。

ATV が蛋白質分解を阻害する活性を持っていることを考え合わせると、ATV 存在下で、小胞体での異常折りたたみ蛋白質の処理が進まなくなり、ER ストレスが増強されて細胞死がより誘導されるようになったと考えることができる。そこで、ER ストレスの増強を、ER ストレス経路の最下流の因子の 1 つである CHOP の発現を検討することにより調べた。その結果、ATV 処理によって CHOP の発現が亢進する細胞が増加し、ATV によるアポトーシス誘導の増強は、ER ストレスの増強によるものであることが証明された。ATV が、脂肪細胞分化プロセスの中で、細胞増殖にともなう細胞密度の増加ではなく、分化誘導因子と接触の段階でアポトーシスによる細胞死を誘導していることが明らかになった。この効果には、HIV 感染者由来脂肪幹細胞と HIV 非感染患者由来脂肪幹細胞とで全く差は認められなかったことから、HIV 感染に特有のものではなく、ATV による治療に直結した現象であることが確認された。

Lipodystrophy の軽減という観点では、ATV による脂肪細胞分化過程でのアポトーシス誘導の分子機序の解明が極めて重要である。すでに、ER ストレスの惹起にかかわる多くの分子が同定されているが、これら因子の解析結果は、いずれもが ER ストレスの増強を示す結果であ

ることから、ATVにより、いわゆる Unfolded protein response (UPR) が誘導されたことが明らかになった。UPR は、糖尿病や腎不全、脳変性疾患でも注目されている生体反応で、HIV 感染患者の治療にともなう Lipodystrophy 以外の副作用の理解の一助にもなると期待される。

以上の結果は、HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が 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細胞死に起因することを証明するものであり、HIV への感染が、このいずれの過程にも影響を及ぼさないことを証明したのものである。この事実は、Lipodystrophy の治療において、治療薬と同時に ER ストレスの阻害剤を併用することで Lipodystrophy を改善できることを示した結果であり、今後の HIV 関連 Lipodystrophy 克服に向けた、新たな治療戦略を提案するものである。

## 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を推進し、HIV 感染患者および HIV 非感染患者由来の脂肪組織由来幹細胞の細胞活性の差異の検討を目的として研究を行った。平成22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を用いた HAAT 薬剤による細胞障害惹起の分子機序の解明を目指した。

## B. 研究方法

手術検体から得られた脂肪組織由来幹細胞懸濁液を、霊長類 ES 細胞培養培地 (ESMF) に混和し、タイプ I コラーゲンをコートした培養フラスコに播種し、37°C、5% CO<sub>2</sub> の条件で培養した。細胞の継代培養は、接着増殖している細胞を 0.2% トリプシン処理により浮遊させ、細胞数を計測した後、一部の細胞を再び培養フラスコに播種して行った。

Atazanavir (ATV) は、エタノールにて溶解後、-30°C の冷凍庫で保存し、使用時には、エタノールで飽和したマイクロピペットを用いて培養液に添加し、よく混和した後に細胞に作用させた。

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、対数増殖期にある脂肪幹細胞を ESMF 中で 90% 以上のコンフルエントの状態まで培養した。その後、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、必要に応じてもう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。脂肪細胞への分化は、細胞質への脂肪滴の蓄積により評価した。

脂肪滴の蛍光検出には、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、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し、デジタル画像を取得して解析を行った。

アポトーシスや ER ストレスの誘導は、蛍光免疫染色法により解析した。アポトーシスの誘導にともなう DNA の断片化は、抗リン酸化ヒストン H2AX 抗体を用いて、また、ER ストレスにともなう CHOP の発現誘導細胞は抗 CHOP 抗体を用いて検出した。これら一次抗体は、Alexa488 もしくは Alexa594 で標識した二次抗体を用いて可視化した。

(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、被験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、おのおの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

Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が治療薬に曝露されることによって起こる特異な現象である可能性を、最近臨床での使用

例の増加が顕著な、プロテアーゼ阻害剤 (PI) の 1 つである ATV を用いて検証した。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 要因が関与するため、細胞増殖期のみ ATV を作用させる群と、全ての時期に ATV が存在する群の 2 つの処理条件を比較した。その結果、細胞増殖期のみ ATV が存在した群では、細胞増殖への作用も含め、何ら影響は認められなかった。一方、全ての時期で ATV が存在した場合では、脂肪細胞分化が顕著に抑制されることが明らかになり、ATV により確認された脂肪細胞分化の抑制効果は、細胞密度が飽和に達し、分化誘導因子が作用する以降のプロセスで発現することがわかった。

この際、ATV を作用させた細胞に特徴的な現象として、細胞の断片が多数観察されたため、アポトーシスによる細胞死が誘導されていることが考えられた。そこで、アポトーシスにともなう DNA の断片化を DNA 損傷マーカーを応用して確認したところ、ATV の濃度依存的なアポトーシス陽性細胞の増加が確認され、ATV による脂肪細胞分化抑制は、細胞分化プロセスに同期した細胞死誘導の増強によるものであることが証明された。

もともと、脂肪分化では小胞体に脂肪が蓄積されるため、ER ストレスを弱いながら惹起することが知られている。ATV が蛋白質分解を阻害する活性を持っていることを考え合わせると、ATV 存在下で、小胞体での異常折りたたみ蛋白質の処理が進まなくなり、ER ストレスが増強されて細胞死がより誘導されるようになったと考えることができる。そこで、ER ストレスの増強を、ER ストレス経路の最下流の因子の 1 つである CHOP の発現を検討することにより調べた。その結果、予想どおり、ATV 処理によって CHOP の発現が亢進する細胞が増加し、ATV によるアポトーシス誘導の増強は、ER ストレスの増強によるものであることが証明された。

#### D. 考察

これまでの研究で、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ないことが確認された。そこで、Lipodystrophy は、治療薬に曝されたときに起こる特異な現象であることが明らかになった。そこで、ATV をモデル薬剤として、*in vitro* の Lipodystrophy モデル実験系を確立した。その結果、ATV が、脂肪細胞分化プロセスの中で、細胞増殖にともなう細胞密度の増加ではなく、分化誘導因子と接触の段階でアポトーシスによる細胞死を誘導していることが明らかになった。この効果には、HIV 感染者由来脂肪幹細胞と HIV 非感染患者由来脂肪幹細胞とで全く差は認められなかったことから、HIV 感染に特有のものではなく、ATV による治療に直結した現象であることが確認された。

Lipodystrophy の軽減という観点では、ATV による脂肪細胞分化過程でのアポトーシス誘導の分子機序の解明が極めて重要である。本研究では、もともと脂肪分化の過程で誘導される微弱な ER ストレスが、ATV の作用によって増強されるという仮説を提唱し、これを証明した。すでに、ER ストレスの惹起にかかわる多くの分子が同定されているが、これら因子の解析結果は、いずれもが ER ストレスの増強を示す結果であることから、ATV により、いわゆる Unfolded protein response (UPR) が誘導されたことが明らかになった。UPR は、糖尿病や腎不全、脳変性疾患でも注目されている生体反応で、HIV 感染患者の治療にともなう Lipodystrophy 以外の副作用の理解の一助にもなると期待される。

以上の結果は、HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞が 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細胞死に起因することを証明するものであり、HIV への感染が、このいずれの過程にも影響を及ぼさないことを証明したものである。この事実は、Lipodystrophy の治療において、治療薬と同時に ER ストレスの阻害剤を併用することで Lipodystrophy を改善できることを示した結果であり、今後

の HIV 関連 Lipodystrophy 克服に向けた、新たな治療戦略を提案するものである。

#### E. 結論

HIV 感染患者における Lipodystrophy の発症が、脂肪幹細胞の分化過程に起こる ER ストレスの増強に起因するアポトーシスによる細胞死に起因することを明らかにし、HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けた新たな治療戦略の分子基盤を提供することができた。

#### F. 健康危機情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

山下俊一

##### 1. 論文発表

- 1) Saenko V, Yamashita S: Chernobyl thyroid cancer 25 years after: in search of a molecular radiation signature. *Hot Thyroidology* (www.hotthyroidology.com), HT 8/10, 2010
- 2) Ujifuku K, Mitsutake N, Takakura S, Matsuse M, Saenko V, Suzuki K, Hayashi K, Matsuo T, Kamada K, Nagata I, Yamashita S: miR-195, miR-455-3p and miR-10a(\*) are implicated in acquired temozolomide resistance in glioblastoma multiforme cells. *Cancer Lett.* 296: 241-248, 2010
- 3) Suzuki K, Nakashima M, Yamashita S: Dynamics of ionizing radiation-induced DNA damage response in reconstituted three-dimensional human skin tissue. *Radiat Res.* 174: 415-423, 2010
- 4) Suzuki K, Yamauchi M, Oka Y, Suzuki M, Yamashita S: A novel and simple micro-irradiation technique for creating localized DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res.* 38: e129, 2010
- 5) Takahashi M, Saenko VA, Rogounovitch TI, Kawaguchi T, Drozd

VM, Takigawa-Imamura H, Akulevich NM, Ratanajaraya C, Mitsutake N, Takamura N, Danilova LI, Lushchik ML, Demidchik YE, Heath S, Yamada R, Lathrop M, Matsuda F, Yamashita S: The *FOXE1* locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Hum Mol Genet.* 19: 2516-2523, 2010

- 6) Kumagai A, Ohtsuru A, Usa T, Mitsutake N, Yamashita S: Molecular targeting therapy with external radiation for intractable and poor-prognosis thyroid carcinoma. *Endocrine Journal.* 57:S455-456, 2010
- 7) Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S: Mesenchymal stem cell therapy for cutaneous radiation syndrome. *Health Phys.* 98: 858-862, 2010
- 8) Ishikawa A, Yamauchi M, Suzuki K, Yamashita S: Image-based quantitative determination of DNA damage signal reveals a threshold for G2 checkpoint activation in response to ionizing radiation. *Genome Integr.* 1: 10, 2010
- 10) Suzuki K, Takahashi M, Oka Y, Yamauchi M, Suzuki M, Yamashita S: Requirement of ATM-dependent pathway for the repair of a subset of DNA double strand breaks created by restriction endonucleases. *Genome Integr.* 1: 4, 2010
- 11) Nakazawa Y, Yamashita S, Lehmann AR, Ogi T: A semi-automated non-radioactive system for measuring recovery of RNA synthesis and unscheduled DNA synthesis using ethynyluracil derivatives. *DNA Repair (Amst).* 9: 506-516, 2010
- 12) Inoue N, Isomoto H, Matsushima K, Hayashi T, Kunizaki M, Hidaka S, Machida H, Mitsutake N, Nanashima A,

- Takeshima F, Nakayama T, Ohtsuru A, Nakashima M, Nagayasu T, Yamashita S, Nakao K, Kohno S: Down-regulation of microRNA 10a expression in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Oncology Letters*. 1:527-531, 2010
- 1 3 ) Sekitani Y, Hayashida N, Karevskaya IV, Vasilitsova OA, Kozlovsky A, Omiya M, Yamashita S, Takamura N: Evaluation of 137CS body burden in inhabitants of Bryansk oblast, Russian Federation, where a high incidence of thyroid cancer was observed after the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant. *Radiat Prot Dosimetry*. 141: 36-42, 2010
- 1 4 ) Ogi T, Limsirichaikul S, Overmeer RM, Volker M, Takenaka K, Cloney R, Nakazawa Y, Niimi A, Miki Y, Jaspers NG, Mullenders LH, Yamashita S, Fousteri MI, Lehmann AR: Three DNA Polymerases, Recruited by Different Mechanisms, Carry Out NER Repair Synthesis in Human Cells. *Mol Cell*. 37: 714-727, 2010

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

##### 1.特許取得

無し

##### 2.実用新案登録

無し

##### 3.その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 年度 分担研究報告書

研究分担課題名 ・ HIV 関連リポディストロフィーにおける顔面皮下脂肪の CT 解析に関する研究

・ 自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の経時変化

研究分担者 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

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。今年度は HIV 関連リポディストロフィーにおける自家脂肪組織由来幹細胞移植術前後の顔面皮下脂肪組織量の経時変化について、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) による解析を行った。

対象は一応の脂肪定着が考えられる術後 6 か月以上経過 HIV 関連リポディストロフィー患者 2 名 (30 歳および 46 歳男性)。それぞれ 2 回および 1 回の自家脂肪組織由来幹細胞移植術を頬部皮下に行った。CT は長崎大学病院に既設の 64 列ヘリカル CT (Toshiba 社製 Aquilion64) を使用し、頭～顔面～頸部の約 1200 スライス (0.5mm 厚) の画像を得た。CT 画像データは画像解析ワークテーション (富士フイルムメディカル社製 Vincent) に転送し解析した。

症例 1 (30 歳男性) は、初回 CT から 50 日目に初回 (細胞数  $5 \times 10^5$ ) および 307 日目に 2 回目 (細胞数  $4.4 \times 10^6$ ) の自家脂肪組織由来幹細胞移植術が行われた。1 回目の術後の皮下脂肪増加は軽度であるが、2 回目の術後は皮下脂肪が著明に増加していることがわかった。症例 2 (46 歳男性) では、自家脂肪組織由来幹細胞移植術が 1 回行われた (細胞数  $3.9 \times 10^6$ )。術後 27 日の CT で皮下脂肪が増加しているが、それ以降 (移植 97 日後と 188 日後) の CT では若干の減少傾向を認める。

64 列ヘリカル CT で得られた三次元データ解析により、自家脂肪組織由来幹細胞移植後の頬部皮下脂肪の増加が確認された。

### A. 研究目的

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。前年度は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、容積測定を行う方法を考案した。

今年度はHIV関連リポディストロフィーにおける自家脂肪組織由来幹細胞移植術前後の顔面皮下脂肪組織量の経時変化について、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。

## B. 研究方法

対象はHIV関連リポディストロフィー患者2名（30歳および46歳男性）。それぞれ2回および1回の自家脂肪組織由来幹細胞移植術を頬部皮下に行った。CTは長崎大学病院に既設の64列ヘリカルCT（Toshiba社製Aquilion64）を使用し、頭～顔面～頸部の約1200スライス（0.5mm厚）の画像を得た。CT画像データは画像解析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、昨年報告した方法によって頬部皮下脂肪の抽出とカラー表示、体積計測を行った。頬部は眼窩下縁、鼻外縁、咬筋前縁、上口唇に囲まれる領域とした。脂肪のCT閾値は-3から-150とした、

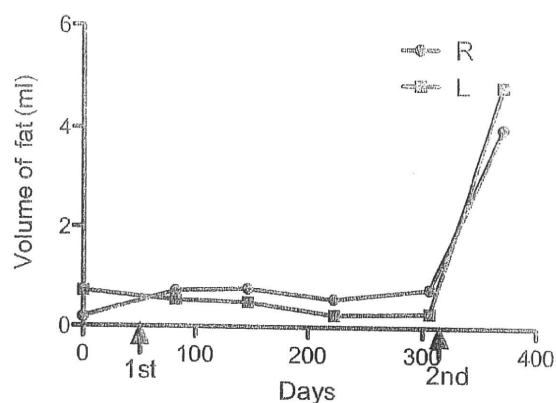
（倫理面への配慮）

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

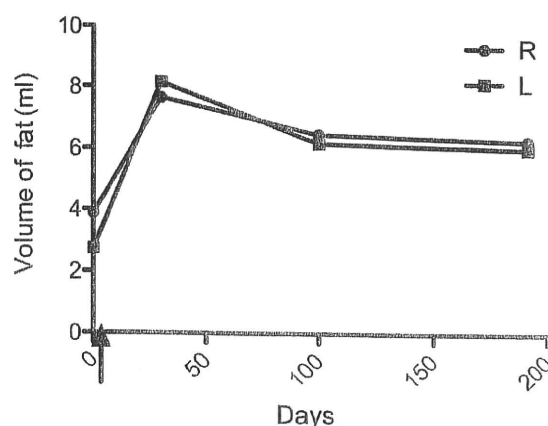
症例1（30歳男性）：初回CTから50日目に初回（細胞数 $5 \times 10^5$ ）および307日目に2回目（細胞数 $4.4 \times 10^6$ ）の自家脂肪組織由来幹細胞移植術が行われた。術前後の頬部皮下脂肪体積の変化を図1に示す。1回目の術後の皮下脂肪増加は軽度であるが、2回目の術後は皮下脂肪が著明に増加していることがわかる。

図1：症例1における自家脂肪組織由来幹細胞移植術前後の左右頬部皮下脂肪の変化（→は手術日）



症例2（46歳男性）：自家脂肪組織由来幹細胞移植術が1回行われた（細胞数 $3.9 \times 10^6$ ）。術前後の頬部皮下脂肪体積の変化を図2に示す。術後27日のCTで皮下脂肪が増加しているが、それ以降（移植97日後と188日後）のCTでは減少傾向を認める。

図2：症例2における自家脂肪組織由来幹細胞移植術前後の左右頬部皮下脂肪の変化（→は手術日）



## D. 考察

2例ともに自家脂肪組織由来幹細胞移植術後の頬部脂肪組織の増加が確認された。今後は症例を増やし、さらに長期的な観察を行いたい。

三次元CTデータを使った解析は、簡便で客観的な方法である。今回の症例は脂肪の増加が明らかであったが、どこまでを有意な変化とするかは明確でない。本解析の再現性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、自家脂肪組織由来幹細胞移植後の頬部皮下脂肪の増加が確認された。

#### F. 健康危機情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

上谷雅孝

##### 1. 論文発表

原著論文による発表

- 1) Chiba K, Ito M, Osaki M, et al: In vivo structural analysis of subchondral trabecular bone in osteoarthritis of the hip using multi-detector row CT. Osteoarthritis. Cartilage. 2010 (In press)
- 2) Ito M, Nakata T, Nishida A, et al: Age-related changes in bone density, geometry and biomechanical properties of the proximal femur: CT-based 3D hip structure analysis in normal postmenopausal women. Bone 2010 (In press)
- 3) Sueyoshi E, Tsutsui S, Hayashida T, et al: Quantification of lung perfusion blood volume (lung PBV) by dual-energy CT in patients with and without pulmonary embolism: Preliminary results. Eur. J. Radiol. 2010 (In press)
- 4) Tsutsui S, Ashizawa K, Minami K, et al: Multiple focal pure ground-glass opacities on high-resolution CT images: Clinical significance in patients with lung cancer. AJR 195: W131-8, 2010

和文

- 1) 上谷雅孝, 他: 骨軟部疾患の画像診断 第2版 (上谷雅孝編著, 秀潤社) 2010

##### 2. 学会発表

海外

- 1) Nagayama H, Sueyoshi E, Tsutsui S, Hayashida T, Sakamoto I, Uetani M. Lung Perfusion Blood Volume (lung PBV) CT Findings before and after Treatment of Pulmonary Embolism. RSNA 2010, Nov 28-Dec 3, 2010, Chicago, USA
- 2) Nakamura D, ueyoshi E, Sakamoto I, Uetani M. Lung Perfusion Blood Volume (Lung PBV) Findings of Various Pulmonary Diseases by Dual Energy CT. RSNA 2010, Nov 28-Dec 3, 2010, Chicago, USA
- 3) Sueyoshi E, Nagayama H, Hayashida T, Sakamoto I, Uetani M. Fate of Chronic Type-B Aortic Dissection: A Pictorial Review. RSNA 2010, Nov 28-Dec 3, 2010, Chicago, USA
- 4) Hayashida T, Sueyoshi E, Kido Y, Sakamoto I, Chiba K, Uetani M. Clinical Usefulness of Fusion Image of Myocardial Perfusion SPECT and CT Coronary Angiography. RSNA 2010, Nov 28-Dec 3, 2010, Chicago, USA

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

無し



厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

平成 22 年度 分担研究報告書

- 研究分担課題名
1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討
  2. 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

研究分担者 藤岡 正樹（国立長崎医療センター形成外科医長、  
同臨床研究センター形態形成外科研究室長）

### 研究要旨

脂肪組織移植の臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討と血友病治療関連 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について検討した。萎縮量検討では、術後合併症としては 7 例（8.4%）に皮弁壊死を、11 例（13.3%）に術後の瘻孔形成をきたし、いずれも追加手術を必要としていた。また移植し頭部 CT の経時的変化は非放射線照射群では脂肪組織の厚さが 15.9%（0.3—31.4%）、放射線照射群では 20.9%（2.3—39.4%）減少していた。術後管理では 2 週間の入院中にも第 VIII 凝固因子の定期的な補充を必要とした。歯槽出血、膝関節痛の症状は認められたが、第 VIII 凝固因子製剤の補給で問題なく対応できた。術後出血は認められなかった。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、しばしば不首尾な結果に陥ることが分かった。また生着した皮弁内の脂肪組織は、術後 6-10 カ月の経過で萎縮する傾向にあった。現時点では組織欠損や、変形に対する gold 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、しばしば不首尾な結果に陥ることが分かった。また生着した皮弁内の脂肪組織は、術後 6-10 カ月の経過で萎縮する傾向にあった。術後管理では凝固因子を補充すれば術後出血も正常な凝固作用機序によって止血することができ、手術後は約 2 週間の補充療法（活性レベル 30%以上）が望ましいと言われている。補充が不十分な場合 10%以上の症例に術後出血が認められ、また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十分な経過観察が必要と考えられた。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。このように血友病患者の後出血と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。今回の 3 症例は経過を通じて術後出血はなく創治癒も良好であった。今回の治療経過から一般総合病院における血友病関連 HIV 患者の術後管理は十分可能であるが、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。

### A. 研究目的

1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討
- 組織欠損や、変形に対して血管柄付き遊離皮弁を使用して再建することは一般的とな

っている。HIV 感染者に合併する Lipodystrophy に対する治療法を確立するため、の分担研究として、従来から施行されている遊離組織移植手術の合併症、安全性を検討した。また頭頸部再建に用いた血管丙付遊離脂肪移植の術後の経時的変化を検討した。

## 2. 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

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、安全性について検討した。今後増えてくると予想される、HIV 患者の外科治療後の管理の指針としたい。

### B. 研究方法

#### 1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討

2003年から2008年までに90名(26—82歳、平均62.1)の頭頸部癌患者に対して切除後遊離皮弁による再建を行った。これら移植手術後の合併症、安全性を検討した。またこのうち19例において術後の経時的形態変化をCT、MRIで追跡できた。うち8例は術後放射線療法を追加されていた。これ等の症例の術後2-3週目と6カ月以降のCTまたはMRI写真を比較して脂肪組織の厚さの変化を検討した。術後の患者の羸瘦や肥満が脂肪弁に及ぼす影響を避けるため、正常脂肪組織の厚さの変化により補正した。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、画像収集や検体採取に関してインフォームドコンセントのもとに被験者の不利益にならないように対策を立て、秘匿性を保持している。データ管理に対しても秘匿性を保持している。

#### 2. 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

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3症例を術後3週間目から術後出血予防目的に入院加療した。患者は血友病、H I V、C型肝炎を合併していた。入院治療中の術後出血、投薬、看護における問題点を検討した。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、画像収集や検体採取に関してインフォームドコンセントのもとに被験者の不利益にならないように対策を立て、秘匿性を保持している。データ管理に対しても秘匿性を保持している。

### C. 研究結果

#### 1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討

術後合併症としては7例(8.4%)に皮弁壊死を、11例(13.3%)に術後の瘻孔形成をきたし、いずれも追加手術を必要としていた。また移植し脳の経時的変化は非放射線照射群では脂肪組織の厚さが15.9%(0.3—31.4%)、放射線照射群では20.9%(2.3—39.4%)減少していた。

#### 2. 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

2週間の入院中にも第Ⅷ凝固因子の定期的な補充を必要とした。歯槽出血、膝関節痛の症状は認められたが、第Ⅷ凝固因子製剤の補給で問題なく対応できた。術後出血は認められなかった。

### D. 考察

#### 1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討

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、しばしば不首尾

な結果に陥ることが分かった。また生着した皮弁内の脂肪組織は、術後 6-10 カ月の経過で萎縮する傾向にあった。第 19 回日本形成外科学会基礎学術集会 (2010 年) において研究分担者である大芦らが報告した「血管丙付き脂肪移植組織の移植後変化に関する検討」では、脂肪弁は血行を保っているにもかかわらず著しい重量減少を認めた。また同学会で江藤らはマウス鼠径虚血モデルを用い、脂肪細胞が虚血環境で速やかに壊死に陥ることを報告した。遊離皮弁内の脂肪組織萎縮の原因は不明であるが、上記の報告から、手術時の脂肪組織に対する侵襲、または皮弁切離から再還流までの期間の一過性の虚血が脂肪細胞壊死を引き起こすためと予測される。

## 2. 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

凝固因子を補充すれば術後出血も正常な凝固作用機序によって止血することができ、手術後は約 2 週間の補充療法 (活性レベル 30%以上) が望ましいと言われている。補充が不十分な場合 10%以上の症例に術後出血が認められ、また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る。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。このように血友病患者の後出血と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。今回施行された脂肪幹細胞移植手術では、脂肪採取手技が鈍的で非直视下手術となるため、確実な止血操作がなされない。したがって比較的長期の十分な患者観察が必要と考えられた。

## E. 結論

### 1. 脂肪組織移植の現状と限界——臨床例での遊離血管柄付移植脂肪組織の萎縮量の検討

従来移植した筋肉は廃用性萎縮や、脱神経性萎縮をきたすことが知られていたが、血行を保って移植した脂肪組織においても移植後脂肪萎縮が見られることが分かった。現行では一般的である本治療法にも安全性・確実性・長期予後に問題を残しており、これに代わる新たな治療法としての脂肪幹細胞移植に今後は大いに期待がかかる。

### 2. 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

今回の 3 症例は経過を通じて術後出血はなく創治癒も良好であった。今回の治療経過から一般総合病院における血友病関連 HIV 患者の術後管理は十分可能であるが、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。

## F. 健康危機情報

特記事項なし

## G. 研究発表

藤岡正樹

### 1. 論文発表

欧文

- 1) Fujioka M, Yakabe A, Masuda K, Imamura Y. Unusual Cheek and Hand Pressure Ulcers Resulting from Head on Hand Napping. WOUNDS.2010;22(5):127-131
- 2) Fujioka M. Although surgery should not be used as first-line treatment, immediate ablation should be performed when necrotic change around the fang mark is recognized. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop.

- Dis.2010 ; 16 (3) : 5-6
- 3) Fujioka M, Oka K, Yakabe A, Kitamura R. The palliative surgery of advanced fungating malignant wounds. *WOUNDS*.2010 ; 22 (10) 247-250.
  - 4) Fujioka M, Yakabe A, Masuda K, Imamura Y. Fatty tissue atrophy of free flap used for head and neck reconstruction. *J Microsurgery* 2010. in press
  - 5) Fujioka M, Yakabe A, Masuda K, Imamura Y. Reconstruction of clavicular using scapular bone vascularized with the angular branch. *Techniques in Shoulder and Elbow Surgery*.2010; 11
  - 6) Fujioka M. 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
  - 7) Fujioka M, Oka K, Kitamura R, Yakabe A. Complex wounds tend to develop more rapidly in patients receiving hemodialysis because of diabetes mellitus *Hemodial Int*. 2009 Apr;13(2):168-71.
  - 8) Fujioka M, Oka K, Kitamura R, Yakabe A. 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, 2009. 168-178.
  - 9) Fujioka Masaki. Artificial dermis: A new material for wound treatment. *JOURNAL OF WOUND TECHNOLOGY*. No. 4 APRIL 13-19.2009
  - 1 0) Fujioka M. 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
  - 1 1) Fujioka M, Yoshida S, Kitamura R. Wound salvage with a fasciocutaneous flap after artificial vascular graft infection. *Plast Reconstr Surg*. 2008 May;121(5):1863-4.
  - 1 2) Fujioka M, Yoshida S, Kitamura R, Matsuoka Y. Iliopsoas muscle abscess secondary to sacral pressure ulcer treated with computed tomography-guided aspiration and continuous irrigation: a case report. *Ostomy Wound Manage*. 2008 Aug;54(8):44-8.
  - 1 3) Fujioka M, Kitamura R, Oka K, Yakabe A. Upper lip pressure ulcers in very low birth weight infants due to fixation of the endotracheal tube. *J Neonatal Nursing* 2008.14,207-210.
  - 1 4) Fujioka M, Oka K, Kitamura R, Yakabe A, Chikaaki N. *Alcaligenes xylosoxidans* cholecystitis and meningitis acquired during bathing procedures in a burn unit: a case report. *Ostomy Wound Manage*. 2008 Dec;54(12):48-53.
2. 学会発表
- 1) Fujioka M. Clinical experience of using bFGF in Nagasaki medical center. Special meeting for the management of burns including bFGF therapy between Korea and Japan Date: June 15, 2010. Venue: