

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09843

研究課題名（和文）採血による皮下組織慢性炎症の活動性の検出と、線維化過程の可視化

研究課題名（英文）Detection of the activity of chronic inflammation in subcutaneous tissue by blood sampling and visualization of the process of tissue fibrosis

研究代表者

秋田 新介（AKITA, SHINSUKE）

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00436403

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：リンパ流、静脈流のうっ滞に伴う皮下組織並びにリンパ管系の変化に伴って生じる線維化の病態を明らかにすることを目的として実施した。ヒト皮下組織においては典型的な線維化過程としてリンパ浮腫並びに癒痕に伴う線維化について観察した。ヒト検体において放射線照射後の線維化を伴うリンパ浮腫において血漿My19値が高値がみられたため、マウスのリンパうっ滞、静脈うっ滞モデルにおいて検証し、組織の鬱血環境における線維化にCD69-My19 systemの活性化が深くかかわっていることを示した。うっ血環境においては、皮下組織での血球成分の漏出がリンパ管への流入し、線維化の一因になっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚皮下組織の線維化については様々な病態を原因とするにもかかわらず炎症に基づく線維芽細胞の活性化として理解されてきた。本研究において明らかになった移植組織静脈うっ滞に伴うCD69-My19 systemの活性化とリンパ流の閉塞は、静脈のうっ滞とリンパ流のうっ滞の連動を示す新たな発見であり、今後の更なる病態の理解と治療方法の開発に貢献すると考えられる。リンパ浮腫並びに静脈うっ滞、その他皮下組織線維化に悩む人々にとって、より根治的な治療法の開発が進むことはquality of lifeの向上のために必要なことであり、本研究の成果は将来ヒトにおける診断や治療評価として社会実装できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the pathophysiology of fibrosis that occurs in the subcutaneous tissue and lymphatic system as a result of changes in lymphatic and venous stasis. In human subcutaneous tissue, fibrosis associated with lymphedema and scarring was observed as a typical fibrosis process. Since My19 levels in plasma were high in lymphedema with fibrosis after irradiation of human specimens, we tested this molecule in mouse models of lymphatic and venous stasis and demonstrated that activation of the CD69-My19 system is deeply involved in fibrosis in a congested tissue environment. In a congestive environment, the CD69-My19 system is activated in the subcutaneous tissue. In the congestive environment, leakage of blood cells from the subcutaneous tissue into the lymphatic vessels may contribute to fibrosis.

研究分野：リンパ浮腫

キーワード：リンパ浮腫 線維化 静脈うっ滞

1. 研究開始当初の背景

本研究の学術的背景としては、これまでに代表者が明らかにしてきた、悪性腫瘍治療後の急性、可逆性のリンパ流のうっ滞から、不可逆的な組織変化である慢性期のリンパ浮腫が生じる過程において、リンパ浮腫発症例と非発症例の個体差が何に起因するのかという疑問があった。代表者はリンパ浮腫進行過程での組織変化について探求してきたが、個体が線維化に向かっているのかどうかという、炎症の活動性についての評価は確立されていない。また、高度線維化組織においてリンパ節移植手術によりリンパ流が改善するとともに、浮腫を生じた四肢の体積や線維化の改善が報告されてきたが、その明確な機序や、移植組織が生着したにもかかわらず改善が乏しい症例があることに対して、明確な病態はこれまでに明らかにされてこなかった。

CD69-MyI9 system は、炎症性免疫担当細胞の炎症組織へのリクルートが、炎症の誘発・増悪に重要な役割を担うことが他臓器において示されてきた。しかし、これまでに、皮膚皮下組織の慢性炎症における CD69-MyI9 system の役割は不明であった。

リンパ浮腫をはじめとする皮膚軟部組織において線維化をきたす様々な病態における CD69-MyI9 system の役割を明らかにすることは、皮膚軟部組織線維化の病態の疾患ごとの違いについての理解を進める意味においても、新たな治療を開発する意味においても、重要となる可能性があると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、リンパ管機能の低下と組織の線維化の関連性について明確化することと、組織の線維化に関連する分子を明らかにすることであった。ヒトにおいて候補となる分子の可能性について検討し、実験動物において線維化に伴う変化を検証することで、線維化のメカニズムを理解し、ヒトの臨床においても治療プロトコールに変化を及ぼす可能性があると考え、臨床研究と動物実験を同時に行った。

3. 研究の方法

本研究はヒトにおける観察研究並びに実験動物における研究をそれぞれの倫理審査委員会承認の下で実施した。

ヒトリンパ浮腫患者において血漿中の myI9 値を測定した。リンパ管機能の変化、治療歴、合併症から、CD69-MyI9 system が関連すると考えられる病態を探索した。ヒトリンパ浮腫症例において、減量手術など、临床上の必要において皮膚皮下組織を切除する症例における、皮膚の組織学的な変化を観察し、リンパ管機能との関連性について検証した。

マウスを用いて、リンパ浮腫モデルの作成とリンパ節移植モデルの作成を行った。リンパうっ滞、動脈血流不全による阻血、静脈うっ滞に伴って生じる組織学的な変化、CD69-MyI9 system の役割について検証した。

4. 研究成果

ヒトリンパ浮腫においては、リンパ管機能の低下と組織の線維化に相関がみられたが、リンパ管機能の低下と血漿 MyI9 値の間に有意な相関関係は見られなかった。一方で、放射線照射後に生じたリンパ浮腫で、慢性の組織炎症が高い一部の症例において高値の傾向がみられた。

リンパのうっ滞のみならず、動脈血流不全による阻血、静脈のうっ滞などの環境における組織学的な変化、CD69-MyI9 system の役割について検証するため、既存のリンパ浮腫モデル、阻血モデル、うっ血モデルにはない新たなモデルを作成した。リンパ浮腫のモデルについては既存の鼠経リンパ節郭清モデルを用いたが、リンパ節移植モデルについては、鼠経リンパ節付き腹部皮弁のマウスモデルを作成し、リンパ節移植手術の阻血、うっ血の環境を模擬できるモデルを作成した。

マウスリンパ浮腫については、初期に高度な浮腫所見を示すものの最終的に残す線維化はヒト慢性リンパ浮腫進行例にみられる高度なコラーゲン発現は乏しく、CD69-MyI9 system の活性化は明確には示されなかった。一方リンパシステムに静脈うっ滞を生じたモデル、リンパ節移植における静脈うっ滞モデルにおいては、高度な線維化を認め、CD69-MyI9 system の活性化が観察された。特にリンパシス

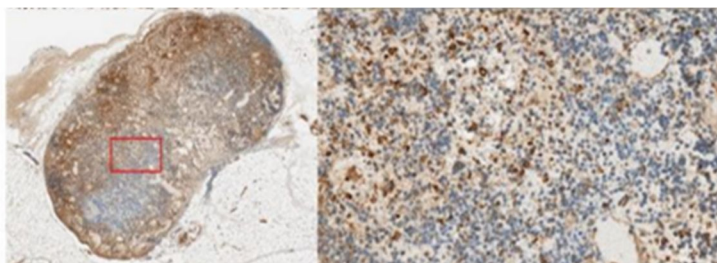


図 1 マウスリンパ節移植モデルにおいて静脈うっ滞を作成すると抗 MyI9/12 抗体陽性免疫担当細胞の出現量が著しく亢進した

テムの内静脈うっ滞リンパ節皮弁内の辺縁洞内の血球の貯留と抗 My19/12 抗体に要請の免疫担当細胞が多量に観察された（図 1）。この所見はコントロール群では観察されず、動脈結紮群では著明ではなかった。

これらの所見から静脈うっ滞環境においては組織間への血球成分の漏出とリンパ管系からの異所性の回収、CD69-My19 system の活性化を介した炎症、線維反応が生じることが示唆された。静脈のうっ血がリンパ節移植後のリンパ管系の機能障害、治療効果減弱の大きな要因になることが示唆された。

さらに、マウス創傷モデルにおいても、骨髄由来細胞の動員と組織の線維化がみられたが、この線維化所見についても術後 4 週までの経過で線維化は改善した。

マウス実験で得られた成果はリンパ浮腫治療の線維化改善手術において、静脈のうっ滞の回避の重要性を示唆するものであり、我々はリンパ浮腫診療における静脈精査のプロトコールに改良を加えている。すなわち、リンパ浮腫の精査にあたっては、深部静脈血栓や静脈瘤に伴う慢性静脈不全などの静脈疾患の除外を行うのみでなく、交通静脈の拡張も含めた静脈システムの入念な観察と必要時には静脈治療を検討する方針とした。このことによって治療成果の向上が得られた。リンパ節移植手術においては静脈うっ滞について特に配慮するため、移植リンパ節組織の静脈流出路の血管吻合の実施を徹底し、術後も吻合動脈、静脈の厳密な観察と血栓の早期発見のための診療体制を確立した。本治療プロトコールの導入後、リンパ浮腫外科治療成績の向上が得られた。

本研究の成果は今回得られた結論にとどまらず、皮下組織の線維化に関する新たな解析方法を得たことで、様々な病態に伴う線維化の病態の把握と新規治療の開発に大きな貢献をもたらすことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Akita S, Yoshida K, Omura M, Yamaji Y, Tezuka T, Tokumoto H, Azuma K, Ikehara Y, Yamaguchi T, Mitsukawa N.	4. 巻 74
2. 論文標題 Noninvasive, objective evaluation of lower extremity lymphedema severity using shear wave elastography: A preliminary study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Plast Reconstr Aesthet Surg .	6. 最初と最後の頁 3377-3385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bjps.2021.05.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shinsuke Akita, Yuzuru Ikehara, Minami Arai, Hideki Tokumoto, Yoshihisa Yamaji, Kazuhiko Azuma, Yoshitaka Kubota, Hideaki Haneishi, Motoko Y Kimura, Nobuyuki Mitsukawa	4. 巻 11
2. 論文標題 Clinical and Histological Effects of Partial Blood Flow Impairment in Vascularized Lymph Node Transfer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 4052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm11144052.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shinozaki M, Wu J, Akita S, Nomura Y, Nakaguchi T.	4. 巻 78
2. 論文標題 Basic study of a noninvasive method of intravascular pressure estimation for chronic leg venous insufficiency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Plast Reconstr Aesthet Surg	6. 最初と最後の頁 48-50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bjps.2023.01.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tokumoto H, Akita S, Nakamura R, Yamamoto N, Kubota Y, Mitsukawa N.	4. 巻 20
2. 論文標題 Investigation of the Association Between Breast Cancer-Related Lymphedema and the Side Effects of Taxane-Based Chemotherapy Using Indocyanine Green Lymphography	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lymphat Res Biol	6. 最初と最後の頁 612-617
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/lrb.2021.0065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秋田新介
2. 発表標題 血管柄付きリンパ節移植における移植リンパ節の血流
3. 学会等名 第30回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinsuke Akita
2. 発表標題 New Findings in LVA and VLNT
3. 学会等名 12th World Society for Reconstructive Microsurgery (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shinsuke Akita
2. 発表標題 Histological Changes in Lymphedema and Surgical Treatment Strategies
3. 学会等名 10th World Symposium for Lymphedema Surgery (招待講演)
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	木村 元子 (Kimura Motoko) (00345018)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	三川 信之 (Mitsukawa Nobuyuki) (40595196)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	池原 譲 (Ikehara Yuzuru)	千葉大学・大学院医学研究院・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関