

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09761

研究課題名（和文）赤唇再建に向けた角化した薄い無毛皮膚の実験動物における再生研究

研究課題名（英文）Animal study to regenerate thin keratinized glabrous skin for vermilion reconstruction

研究代表者

杠 俊介（Yuzuriha, Shunsuke）

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：10270969

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：角化した薄い無毛皮膚を動物実験で作成するため、薄い皮膚としてマウスの耳の皮膚を筋上へ移植した。生着皮膚はわずかに赤みを呈したが、残存する皮膚付属器や色素細胞により赤唇とは類似しなかった。無毛皮膚移植として、ヌードマウスやヘアレスマウスの皮膚で同様の実験を行ったが、いずれも白みを呈した。残存する未熟な毛包や脂腺が影響していると推測された。移植の前後で角化細胞の分化マーカーやサイトケラチンの発現に違いは認めなかった。ヒトの赤唇に類似した部位をもつニホンザルの口唇皮膚を用いて移植実験を行った。白唇皮膚よりも赤唇皮膚の方が赤味を呈しており、赤唇再建には皮膚付属器のない角化した薄い皮膚が重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

熱傷を含む外傷や手術による切除および口唇裂などの口唇を含む先天異常の手術の際に、赤唇組織を完全に再建・再生するすべは未だない。これまでの研究により、下層の筋肉の赤色を透見させる皮膚付属器の無い複合上皮が赤唇再建および再生の鍵であると判明した。今回、動物実験で検証を試みたが、赤唇組織に置き換えられる皮膚組織は本研究では見出すことは出来なかった。しかし赤唇の赤色に筋肉の色調も関与していることが示唆されたことは今後の赤唇再建時に有用な知見となり得るとともに、再生への足上がりとなるであろう。

研究成果の概要（英文）：The auricular skin of mice was transplanted on the muscle in order to make the cornified and thin hairless skin in the animal experiment. The grafted skin showed slight reddish, but not resembled the red lip due to the remaining skin appendages and pigment cells. Similar experiments were performed on the skin of nude mice and hairless mice as hairless skin grafts, both of which showed whitish color. Histological analysis suggested that the remaining immature hair follicles and sebaceous glands were involved. No differences were found in the expression of differentiation markers and cytokeratin of the keratinocytes before and after the skin graft. Skin graft was performed using the labial skin of Japanese macaque, which had a tissue similar to the human red lip. The red lip skin was more reddish than the white lip, and it was indicated that the cornified and thin skin without skin appendages grafted on the muscle was important for the red lip reconstruction.

研究分野：形成外科学

キーワード：赤唇 角化 皮膚付属器 動物実験 組織学 口唇裂

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 赤唇は身体で唯一存在する組織であり、外傷や腫瘍切除で失うと、現状では代用組織で再建しても完全に満足のいくものではない。

(2) 赤唇は角化を伴った無毛の表皮下に薄い真皮を有していて口輪筋表層までの距離が短いため、筋の色が透けて見えるために赤く、メラニン色素が多いため口唇粘膜より赤さがくすんで見える。

(3) 正角化、付属器の欠如、薄い真皮、多めのメラニン色素を有した赤唇をいかにして再生して、再建された赤唇領域を維持できるようにするかが治療への導入に重要点となる。

(4) 角化していて付属器が無く薄くその面積が維持される無毛領域を有毛動物で作成することが出来ないか、その手法を見出すべく本研究を行う。

### 2. 研究の目的

(1) 赤唇を再建することを想定し、有毛部である動物背部に厚さの薄い無毛の角化領域を作ること。

(2) 究極的には、有毛部で厚い真皮の部位あるいは粘膜部位を無毛表皮の薄い真皮に誘導すること。

### 3. 研究の方法

(1) 薄い皮膚を特定するため、C57BL6 マウスの各部位の皮膚(背部、腹部、大腿部、尾、耳)を採取し、固定後パラフィン切片を作製し、HE染色により表皮と真皮の厚さを計測した。

(2) 同系統のマウス背部に筋体が露出する創を作製し、薄い皮膚を植皮固定。生着した植皮片の色調変化を観察した。

(3) 無毛皮膚を採取するため、ヌードマウス(SCID)およびヘアレスマウス(Hos:HR-1)の皮膚を同様に、SCID背部の筋体上へ移植する。生着した皮膚を観察した。

(4) 移植した皮膚および移植後の皮膚組織を採取し、固定後パラフィン切片を作製し、HE染色、マッソントリクローム染色(膠原線維同定)、免疫染色(Involucrin(角化細胞の分化マーカー)、各サイトケラチン:CK5(上皮細胞のうち特に基底細胞同定)、CK10(上皮細胞のうち基底細胞以外の同定)、CK4(粘膜上皮の同定))を行った。

(5) ニホンザルおよびマウスの口唇部の組織を採取、固定後パラフィン切片を作製し、マッソントリクローム染色、免疫染色(CK4、CK10)を行った。赤唇部の組織学的特徴を比較するため、ヒトの口唇組織と比較検討した。

(6) ニホンザルの口唇組織(口唇粘膜、赤唇、白唇部位を含む)を採取後に薄く加工し、SCIDの背部筋体上へ移植した。生着した皮膚を観察しつつ、組織を採取しマッソントリクローム染色および免疫染色(CK4、CK10)を行った。

### 4. 研究成果

(1) マウスの身体における皮膚のうち、表皮は20 $\mu$ m前後と同じであったが、真皮はバラつきが多く、一番薄いのは耳の皮膚(50-100 $\mu$ m)であった。

(2) 薄い皮膚として耳の皮膚を筋上に移植すると、やや赤みのある色調ではあったが、色素細胞が多く褐色調となった。また無毛皮膚として移植したヌードマウスやヘアレスマウスの皮膚は生着後白みを帯びた色調へと変化した。これは残存する未熟な毛包や脂腺が原因と推測された(図1)。

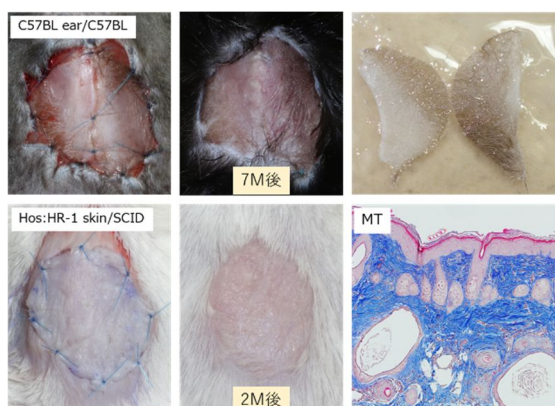


図1 マウス皮膚移植と組織像  
(上段:耳,下段:ヘアレスマウス皮膚)

(3) マウスの皮膚を用いての角化した薄い無毛皮膚の移植は完全な条件を満たす皮膚組織が存在せず、今回の研究からは評価できないことが判明した。

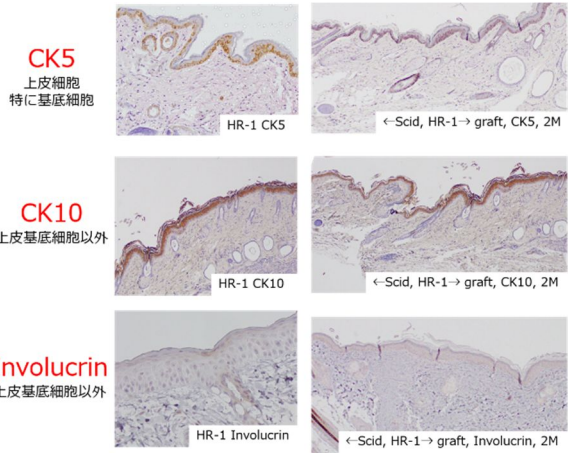


図2 移植前後での角化およびサイトケラチンの発現変化(左:移植前、右:移植後)

(4) 皮膚移植前後における植皮した皮膚で発現しているサイトケラチン (CK5、CK10) および角化細胞の分化マーカーである Involucrin の変化は認められなかった (図2)。

(5) マウスおよびニホンザルの口唇部の組織には、ヒトの赤唇組織で認められる皮膚付属器のない、筋組織が上皮直下まで入り込む、CK10 陽性で CK4 陰性の領域が認められ、程度の差はあるものの、赤唇に類似した部位が存在することが判明した(図3)。

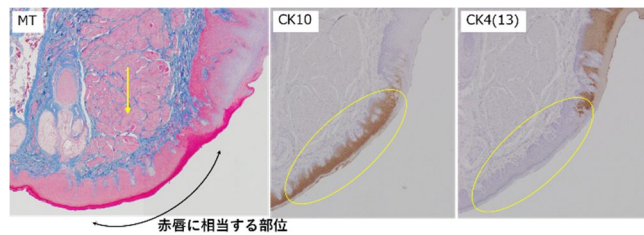


図3 ニホンザルの赤唇に該当する部位 (黄矢印:口輪筋、黄丸:赤唇該当部位)

(6) マウスの赤唇部分は幅が 1mm にも満たないため、ニホンザルの口唇組織 (口唇粘膜、赤唇、白唇に該当する部位を含め) を用いて SCID の筋上に移植したところ、白唇組織よりも赤唇組織に該当する部位で赤い色調が認められた。(図4)

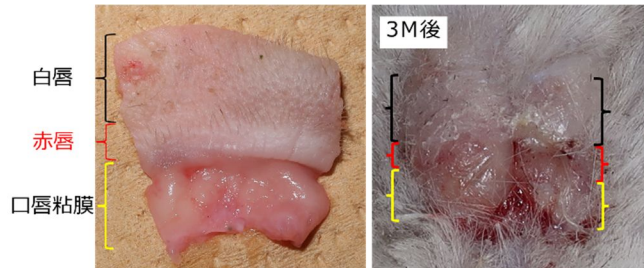


図4 ニホンザルの口唇皮膚移植(左:移植皮膚、右:移植後)

(7) 皮膚付属器の無い薄い無毛皮膚を筋上に移植することにより、筋の色調を透見して赤色を呈する赤唇を擬似的に再現することができた。

(8) 今後はマウスには存在しない皮膚付属器のない薄い無毛皮膚を組織工学的的手法を用いて、皮膚移植に耐えうる組織構築を作製し、動物への移植を計画している。

< 引用文献 >

Takashimizu I ( 高清水 一慶 )、Yuzuriha S ( 杢 俊介 )、The amounts of melanin pigment causing color differences between the vermilion and lip mucosa、J Plast Reconstr Aesthet Surg、71 巻、2019、1826-1827

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakajima Yuta, Yuzuriha Shunsuke, Nagai Fumio	4. 巻 60
2. 論文標題 Longitudinal morphological changes in the mucosal free margin after unilateral cleft lip repair	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cleft Palate Craniofac J	6. 最初と最後の頁 1540-1545
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/10556656221108851	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 杠俊介, 中嶋優太	4. 巻 16
2. 論文標題 口唇裂術後の癒痕組織による赤唇肥厚は12歳以上に成長すると薄くなる	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 癒痕・ケロイド治療ジャーナル	6. 最初と最後の頁 5-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杠 俊介	4. 巻 64（増刊）
2. 論文標題 きれいなキュービット弓をつくりたい - White skin rollはなぜ白い？口紅が乗る赤唇って粘膜？ -	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 S157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 高清水一慶, 中嶋優太, 杠 俊介
2. 発表標題 赤唇皮膚再生に向けた組織学的解析と作成の試み
3. 学会等名 第53回日本創傷治癒学会, 軽井沢
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高清水一慶, 中嶋優太, 杠 俊介
2. 発表標題 赤唇皮膚再生に向けた組織学的解析と作成の試み
3. 学会等名 第66回日本形成外科学会総会・学術集会, 長崎
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中嶋優太, 高清水一慶, 杠俊介
2. 発表標題 赤唇再建に向けたマウスを用いた植皮実験の組織学的検討
3. 学会等名 第31回日本形成外科学会基礎学術集会, 岡山
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shunsuke Yuzuriha, Yuta Nakajima
2. 発表標題 Thick vermilion due to scar tissue after cleft lip surgery becomes thinner as it grows over 12 years
3. 学会等名 CLEFT 2022, Edinburgh, Scotland, UK (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杠 俊介
2. 発表標題 口唇裂の初回手術を語る
3. 学会等名 第26回日本形成外科手術手技学会(東京, オンデマンド), シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中嶋優太, 杠 俊介, 永井史緒
2. 発表標題 片側唇裂患者において, 1歳で観察される上唇結節は成長終了時には消失する
3. 学会等名 第64回日本形成外科学会総会・学術集会(東京), 一般口演
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高清水一慶, 杠 俊介
2. 発表標題 なぜ赤唇は赤いのかー組織学的解析から捉えた赤唇組織の特徴-
3. 学会等名 第64回日本形成外科学会総会・学術集会(東京), 一般口演
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杠 俊介
2. 発表標題 口唇裂手術のポイント(片側と両側)
3. 学会等名 第64回日本形成外科学会総会・学術集会(東京), 教育講演(招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 杠俊介、岡崎睦(編)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 克誠堂出版	5. 総ページ数 225
3. 書名 形成外科基本手術01 シンプルスタンダードを匠のこだわりの技で	

〔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	高清水 一慶  (Takashimizu Ikkei)  (00793019)	信州大学・医学部・助教(特定雇用)    (13601)	
研究分担者	永井 史緒  (Nagai Fumio)  (10794620)	信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教    (13601)	
研究分担者	常川 主裕  (Tsunekawa Kazuhiro)  (30625778)	信州大学・学術研究院医学系・講師    (13601)	
研究分担者	細見 謙登  (Hosomi Kento)  (90793787)	信州大学・医学部・特任助教    (13601)	

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