

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09802

研究課題名(和文) bFGF添加PRPによる脂肪再生は真実か？-美容医療におけるエビデンスの構築

研究課題名(英文) Is fat regeneration with bFGF-enriched PRP a reality? -Building evidence in aesthetic medicine

研究代表者

水野 博司 (Mizuno, Hiroshi)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：80343606

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)：塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)や多血小板血漿(PRP)は再生医療に広く用いられるが、両者の混合移植による有害事象が美容医療で問題となっている。本研究ではbFGF添加PRPの脂肪組織への影響を検証した。ヌードマウスにヒト脂肪組織を注入し、bFGF添加PRP、PRP、bFGFを各々投与し、組織学的・免疫組織学的に評価した。

その結果、bFGF添加PRP群ではbFGF濃度依存的に組織の線維化が亢進、血管新生はbFGF濃度依存的に増加、PPAR γ の発現はbFGFベル型濃度依存的に多く認められた。以上より低中濃度のbFGF添加PRPは脂肪分化を促進するが高濃度では線維化を助長することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

美容医療は保険外診療が原則の為、事によれば必ずしも安全性を担保されているとは言えないものもある。近年ではbFGF添加PRPを皮下に投与することで皮下脂肪の再生を介した組織増大を促す治療が提供されているが、多くの有害事象も報告されているなど、本治療法の安全性や有効性が科学的に検証されておらず憂慮した状況が続いてきた。今回の研究によって、bFGFの濃度次第で時に脂肪再生の促進を起こし、時に組織の線維化を惹起することが明らかとなった。本結果はbFGF添加PRP治療の脂肪組織への影響を示した初めての報告であり、美容医療領域に乏しいEBMの構築に寄与できたのではないかと考える。

研究成果の概要(英文)：Basic fibroblast growth factor (bFGF) and platelet-rich plasma (PRP) are widely used in regenerative medicine, but adverse events from their combined transplantation have become a concern in aesthetic medicine. This study investigated the effects of bFGF-enriched PRP on adipose tissue. Human adipose tissue was injected into nude mice, followed by administration of bFGF-enriched PRP, PRP, or bFGF alone, and the effects were evaluated histologically and immunohistochemically.

The results showed: 1) bFGF-enriched PRP group promote tissue fibrosis in a bFGF concentration-dependent manner, 2) angiogenesis increased in a bFGF concentration-dependent manner and 3) PPAR γ expression was higher in a bell-shaped bFGF concentration-dependent manner. Thus, low to medium concentrations of bFGF-enriched PRP promote adipocyte differentiation, whereas high concentrations enhance fibrosis.

研究分野：形成外科学 美容外科学 再生医学

キーワード：bFGF PRP 脂肪再生 美容医療

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年美容医療領域における再生医療の1手法として、患者の自家多血小板血漿(Platelet Rich Plasma、以下 PRP)に塩基性線維芽細胞増殖因子(basic Fibroblast Growth Factor、以下 bFGF)を添加した混合物(以下 bFGF 添加 PRP)を顔面などの陥凹部に注入投与することで組織の増大を図り整容的改善が得られるとする報告が散見されている。しかしながら一方で日本美容外科学会(JSAPS)の調査によれば(申請者は当該委員会前委員長)、多くの学会員が bFGF 単独注射、あるいは PRP などの細胞成分に bFGF を添加したものの注入投与を受けた患者の中で多くの合併症の診察経験があることが判明している。このように美容医療における再生医療が不確実性であるところの1つとして、本当にそれらの治療手段が安全性や有効性を担保されているのかどうか、臨床研究で客観的に検証することが美容外科という特性上極めて困難であるため、時に種々の合併症や有害事象を引き起こすことも懸念される。こうした事態は我が国の再生医療の健全な促進の足を引っ張る事態にもなりかねず憂慮すべき事態である。このような背景から、本研究においては近似動物モデルを用いて様々な検証を実施し、当該治療法が妥当な再生医療と言えるのかどうかについて明らかにする必要があると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、bFGF 添加 PRP を皮下に投与することで皮下脂肪の再生を介した組織増大を促すといった現象が果たして真実なのか、またそもそもそうでないとするれば組織増大現象の本質は何か、そしてその治療方法は安全なものなのかについて再生組織の質的評価について形態学的、組織学的、免疫組織学的に検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ヒト脂肪組織の採取と PRP 精製

順天堂大学倫理委員会の承認を得た後、乳房再建術を受ける3名の患者の同意を得て手術中に破棄される余剰皮下脂肪組織および PRP 作成のために採血した末梢血を実験に供した。皮下脂肪は剪刀で細断後に洗浄、遠心分離して高濃度の脂肪組織を回収した。末梢血からの PRP 作成の際はダブルスピン法を用いて PRP を精製した。

得られた PRP に含まれる血小板数を測定し、濃縮率を算出した。

(2) ヒト脂肪組織モデルの作成および各実験群の作成

順天堂大学動物実験倫理委員会の承認の後、ヒト皮下脂肪近似モデルを作成した。6週齢雌 BALB/cAJcl-nu/nu マウスの背部皮下に左右それぞれ 0.3ml ずつの脂肪組織を注入移植した。4週間後に作成したヒト皮下脂肪組織に対し、bFGF 添加 PRP 投与群、PRP 投与群、bFGF 投与群、PBS 投与群の4種類を作成し、更に と については bFGF の濃度を低濃度、中濃度、高濃度の3群に分類した。

- bFGF 添加 PRP 投与群
 - ・低濃度 bFGF (1.67 μ g)
 - ・中濃度 bFGF (5 μ g)
 - ・高濃度 bFGF (15 μ g)
- PRP 投与群
- bFGF 投与群
 - ・低濃度 bFGF (1.67 μ g)
 - ・中濃度 bFGF (5 μ g)
 - ・高濃度 bFGF (15 μ g)
- PBS 投与群

(3) 形態学的評価

各実験群作成後2週目及び4週目に CT を撮影し ImageJ を用いて各脂肪組織の体積の計測を実施した。また4週目に検体を摘出し、肉眼的評価および検体の重量測定を行った。

(4) 組織学的評価

各実験群作成後4週目に検体を摘出し、HE 染色による組織内に占める脂肪細胞の占有状態等を、また AZAN 染色による組織の線維化の程度に関して検証した。

(5) 免疫組織学的評価

各実験群作成後4週目に検体を摘出し、抗 CD31 抗体を用いて血管新生の程度について、抗 perilipin 抗体を用いて生存脂肪細胞の割合について、また抗 PPAR 抗体を用いて脂肪細胞への分化の程度について検証した。

4. 研究成果

(1) 精製された PRP の特性

3 検体より精製された PRP についてはいずれも末梢血中の血小板濃度よりも濃縮されており、その濃縮率はそれぞれ 7.4 倍、8.3 倍、9.8 倍であった。同時に PRP に含まれる白血球数は平均 4700/ μ l と少ない状況であった。

(2) 各群における試薬投与後の体積の変動および重量の変化

各実験群作成後の 2 週目と 4 週目に撮影した CT 画像より検体の体積評価を行ったところ、どの群も継時的に減少する傾向を認め、4 週目においては 25 ないし 50% 程度減少していた。これらはすべての群間に有意な差は認めなかった。

また 4 週目の検体の重量測定の結果、低濃度 bFGF 添加 PRP 投与群が最も重量が維持されていたが、こちらに関しても全ての群間に有意な差は認めなかった。

(3) 組織学的評価

各実験群作成後 4 週目において標本を摘出し、最初に HE 染色による評価を実施した。その経過、コントロール群と比較して PRP 投与群、低濃度 bFGF 添加 PRP 投与群、中濃度 bFGF 添加 PRP 投与群で有意に脂肪組織の専有面積が多かった。また AZAN 染色においては、PRP の投与如何に関わらず中濃度から高濃度の bFGF を投与した群においてコントロール群と比較して有意に組織の線維化が亢進していた。

(4) 免疫組織学的評価

まず初めに CD31 に対する免疫染色を実施したところ、中濃度から高濃度の bFGF を単独投与した群においてコントロール群と比較して有意に血管新生が亢進しており、更に高濃度 bFGF 単独投与群では PRP 単独投与群と比較しても有意に血管新生が亢進していた。bFGF 添加 PRP 群においては bFGF 単独投与群よりもわずかながら血管新生の減退があるような傾向であった。

次に生存する脂肪細胞に発現すると言われている perilipin に対する免疫染色を実施したところ、どの群においても陽性細胞の発現にかんして明らかな有意差は認められなかった。

最後に脂肪細胞の分化に関わるマスターレギュレーターと言われる PPAR α に対する免疫染色を実施したところ、低濃度および中濃度 bFGF 投与群、ならびに中濃度 bFGF 添加 PRP 投与群においてコントロール群と比較して有意に PPAR α の発現の程度が上昇していた。更に興味深いことに、PRP の投与如何に関わらず中濃度の bFGF を投与した群において最も PPAR α の発現の程度が上昇するという、ベル型用量依存性を呈することが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 水野博司
2. 発表標題 再生医療における世界の動向と美容医療における再生医療の現状と影
3. 学会等名 第144回日本美容外科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mizuno H
2. 発表標題 Hype and Hope: Regenerative Medicine in Aesthetic Surgery
3. 学会等名 The 26th Annual Scientific Meeting of the Indonesian Association of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgeons（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mizuno H
2. 発表標題 Current status and challenges of regenerative medicine in anti-aging aesthetic medicine
3. 学会等名 The 6th Asia Pacific Anti-Aging Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mizuno H
2. 発表標題 Exploring autologous cells in anti-aging and aesthetics: recent trends in Japan
3. 学会等名 The 6th Asia Pacific Anti-Aging Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤智之、金 正楠、平野理恵、田中里佳、水野博司
2. 発表標題 ヒト脂肪組織内への塩基性線維芽細胞増殖因子と多血小板血漿の混合投与による影響
3. 学会等名 第32回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤智之、金 正楠、黄 桂娟、平野理恵、田中里佳、水野博司
2. 発表標題 塩基性線維芽細胞増殖因子と多血小板血漿の混合投与によるヒト脂肪組織への影響の検証
3. 学会等名 第23回日本再生医療学会総会
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	小出 寛 (Koide Hiroshi) (70260536)	順天堂大学・大学院医学研究科・特任教授 (32620)	
研究分担者	松井 千裕 (Matsui Chihiro) (80815019)	順天堂大学・医学部・非常勤助手 (32620)	

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
---------	---------