

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月26日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22406030

研究課題名（和文） 国際放射線障害治療拠点形成について

研究課題名（英文） Establishing a global base in treatment of radiation injuries

研究代表者

秋田 定伯 (AKITA SADANORI)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：90315250

研究成果の概要（和文）：

局所放射線障害における急性放射線障害モデルとして放射線照射後（10Gy）の塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）の直後からの連続投与による皮膚軟部組織の防護効果を見いだした。

自家脂肪幹細胞移植を安全で効果的な創傷治癒促進と皮下組織および間葉系組織の再生を認めた。ロシア、旧ロシア、ヨーロッパ、アメリカおよび中国、韓国を始めとする近隣アジア諸国からの引用と国際共同プロジェクトの構築を開始した。

2010年6月ロシア国 サンクトペテルスブルク卒業教育医学アカデミーの創設125周年記念式典における長崎大学との共同生物会議では、2010年11月に研究代表者が客員教授に推戴された。2011年2月Nagasakiで開催の13<sup>th</sup> Coordination and planning meeting of the REMPAN (Radiation Emergency Medical Preparedness and Assistance Network) 会議で発表し、国際共同プロジェクトの構築を開始した。2012年9月Yokohamaで第4回世界創傷治癒学会連合会議を secretary general として主催し、50カ国以上、3,500名の参加の元、創傷の世界ネットワーク構築提言と実務検討を、旧ソ連邦、中国、フィリピン、韓国、台湾、シンガポール、インドネシアなど近隣アジア諸国、ヨーロッパ諸国及びアメリカ合衆国専門家と討議し、放射線障害拠点構想の実現と Transcontinental Wound Registry (大陸間創傷登録) データベースへの参加を呼びかけた。

研究成果の概要（英文）：

Protective effect of skin soft tissue was validated immediately after external irradiation (10Gy) by continuous administration of basic fibroblast growth factor (bFGF) as acute radiation injury model in the local radiation damage.

Autologous adipose-derived stem cell therapy is safe and effective in treatment of chronic radiation injuries. For possible application of stem cell therapy for acute as well as chronic injuries, the construction of the international joint project with a quote from neighboring Asian countries, including China, Russia and South Korea, the old Russia, Europe, and USA was proposed.

The joint meeting with the biological Nagasaki University and 125<sup>th</sup> anniversary-Russian Saint Petersburg Medical Academy of Postgraduate Studies in June, 2010, Principal Investigator was awarded to a visiting professor in November 2010. Announced 13<sup>th</sup> Coordination and planning meeting of the REMPAN (Radiation Emergency Medical Preparedness and Assistance Network) meeting was held in Nagasaki, February, 2011, where the a joint international project was expanded. Fourth World Union of Wound Healing Societies (WUWHS) was held in September, 2012 Yokohama and the former Soviet Union, China, the Philippines, based on the participation in more than 50 countries, 3,500, practical study and world network construction recommendations of wound, to discuss neighboring Asian countries South Korea, Taiwan, Singapore, and Indonesia, and the United States of America professional and European countries, was invited to participate Transcontinental Wound Registry to (intercontinental wound registration) database and realization of radiation damage center project.

The principal investigator played a role of an organizer as the secretary general.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：国際連携、放射線障害

1. 研究開始当初の背景

それまで、長崎大学では代表者・研究分担者を中心としたチームにより特に、旧ソ連邦で医療・教育・医学疫学活動を実施してきている。緊急ヒバク医学の世界的な充実の背景には、1986年4月、現ウクライナ共和国、チェルノブイリ原子炉での臨界事故後対策が挙げられ、今後の新たな治療学・疫学医学・社会整備上の新展開が必要となっている。緊急ヒバク医療のネットワーク整備と、緊急ヒバクから核・放射線に関する問題点を国際連携により解決することを目的として設立された WHO-REMPAN (World Health Organization-Radiation Emergency Medical Preparedness and Assistance Network、世界保健機関緊急ヒバク医療ネットワーク)での活動は会議発表・意見交換し気象条件などを考慮しつつ緊急ヒバク対応について、IAEAの coordinationのもと、共にWHO-REMPANの一員として日本発の提言と医学的援助を推進し結果をwebsite上に公開している

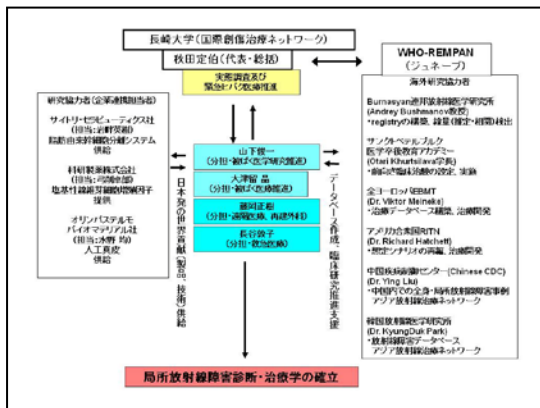
更に分担研究者を中心にこれまでに1991年からチェルノブイリ周辺地区でも児童・学童の20万人以上の体内被曝セシウム137測定、甲状腺、血液検査を実施しており、1949年以降これまでに450回以上の核実験を実施したカザフスタン共和国セミパラチンスク州では甲状腺機能調査に加え、周辺地区住民の甲状腺がん組織の遺伝子診断を行なっている。また、隣接するロシア連邦アルタイ地区では、同じく核実験による放射性降下物(fallout)の影響をうけており、1998年以降現在まで被曝地区の線量調査や、在留被曝者の検診活動を行っている。福島原発事故後の社会現象や放射性廃棄物などから作成されるdirty bomb、核物質の盗難とそれらがテロ目的で悪用される恐怖、放射線医療事故

など、放射線・核ヒバクによる健康・医学問題が単に、原子力発電、核兵器などの産業に特異的な問題から、非常に身近な問題へと拡大している。REMPAN 会議においても専門家間の協調性・連携の重要性は強調されており、緊急ヒバクの創傷治療に特化したネットワークの早急な確立と、専門的なメカニズム、診断学、治療学の確立、ひいては public health への貢献が強調されている。現在、Burnasyan 連邦放射線医学研究所(ロシア放射線物理生物研究所 (Institute of Biophysics) とロシア第6病院からの合併改組)では旧ソ連邦(ウクライナ、ベラルーシ、カザフチタンを含む)を中心とした被曝者の治療実績とデータが収集され、急性及び晩発性放射線障害治療が実施されている。全身及び局所放射線障害に対する治療経験をもつヨーロッパ各国(特にフランス、ドイツ)の医学・疫学データ蓄積では全身性放射線障害に対する造血幹細胞治療の適応の是非が検討されており(EBMT, European Bone Marrow Transplant group)、他方、アメリカ合衆国においては2001年9月11日の同時多発テロ事件以来、国際放射線・核テロに対する大量殺戮事件(数十万規模の放射線・核被曝)を想定し、RITN(Radiation Injury Treatment Network)を中心とした国家プロジェクトが形成されている。今回緊急性の高い緊急医療体制の確立を目的に、WHO collaborating centerとして放射線誘導甲状腺疾患・放射線障害外科治療を目標とし、重傷外傷治療、甲状腺がん、皮膚がんなどの活動で得られた知見を基盤に、アジア近隣諸国を含めた創傷治療国際医療協力を前提とした学術調査を計画した。

2. 研究の目的

局所創傷の迅速な再建は SIRS(Systemic Inflammatory Response Syndrome)と続発する ALI(Acute Lung Injury)・敗血症への移行を阻止する。また遅延創傷治癒は局所感染の可能性が高く、後に整容面のみならず機能的欠落を伴うことがあるため、放射線・核局所障害にも治療において人工皮膚代用物(人工真皮)、培養間葉系幹細胞、細胞刺激因子等により効果的な治療法開発を進めており、局所免疫の改善、被曝線量の定量化と特異マーカーの検索、障害部位の線量画像ガイド手術などが試みられるが標準化に至っていない。また遷延し慢性化・難治化した放射線障害へ局所への自家脂肪由来幹細胞を用いた再生療法によって新たな治療展望が開けている。ミニブタ前臨床モデルを用いて、局所放射線障害の機序、診断方法、効果的な治療方法の開発を安全性と効果、効率について前向き研究し、更に得られた情報のうち、ネットワーク内で共有可能な診断方法及び治療方法については緊急時 stockpile として備蓄化を考慮する。また、実際の治療標準化については WHO-REMPAN 会議(2011年 長崎大学主催)にて発表し、各国施設特にアジア内で on-site, live surgery を予定している。医療事故などで頻度の多い局所放射線障害は、最も身近な医療問題でもあるため、安全性担保は public health の面からも一般化可能な再建・再生方法に期待が懸かると考えられた。

### 3. 研究の方法



#### I・データベースの整備

1. 臨床推定線量と生物学的線量のすりあわせと、計測手段が以前の方式と現行では大きく異なる事を前提に、主に臨床症状を中心とした実効性のあるデータベース化
2. データベースのヨーロッパ、アメリカでの局所障害との照合

#### II. 局所放射線障害の臨床診断の統一と前向き試験プロトコール作成

1. 急性及び慢性放射線障害臨床診断の統一
2. 急性及び慢性局所放射線障害の前向き試験(国際多施設試験)と臨床データ収集

#### III. 放射線障害モデルの作成と脂肪由来幹細胞の安全性、有効性の確認

1. 前臨床動物モデルの作成
2. in vitro での細胞毒性、腫瘍化などの検証
3. 分子イメージングの確立

#### 4. 研究成果

##### I. 2010 年度

局所放射線障害における急性放射線障害モデルとして放射線照射後(10Gy)の塩基性線維芽細胞細胞増殖因子(bFGF)の直後からの連続投与による皮膚軟部組織の防護効果は、機械的な伸展組織に対して表皮基底細胞の細胞増殖と CD34 で示された真皮血管数の増加、アポトーシスの減少などを認めており、更に幹細胞移植の場合にはより効果的であると示唆された。

5例の難治性慢性放射線障害部位の皮膚軟部組織の再生治療例のうち、頸部瘢痕拘縮(1例)、胸部瘢痕拘縮(1例)、膝金属プレート部位瘢痕拘縮(1例、2回手術)、顔面高度萎縮(1例)に自家脂肪幹細胞移植を安全で効果的な創傷治癒促進と皮下組織および間葉系組織の再生を認めた。ロシア、旧ロシア、ヨーロッパ、アメリカおよび中国、韓国を始めとする近隣アジア諸国からの引用と国際共同プロジェクトの構築を開始した。2010年4月のアメリカ創傷治癒学会(オーランド、フロリダ州)において、成果報告した。2010年6月ロシア国 サンクトペテルスブルク卒業教育医学アカデミーの創設125周年記念式典における長崎大学との共同生物学会議では、感染症とともに、放射線医学データベース構築及び再生医療学連携の具体的検討を開始し、2010年11月に研究代表者が客員教授に推薦された。

クロアチア国 ME-DENT institute との再生医療学連携も2010年11月の第一回検討会を経て、2011年2月末～3月に再生医療の臨床治験例を経験している。

2010年9月、韓国 ソウルで創傷モデルを用いた教育的 hands-on プログラムを主催し、300名の参加者と共に、アジア地域における創傷ネットワークの構築を放射線障害を含めて開始した。

##### II. 2011 年度

2011年2月 Nagasaki で開催の 13<sup>th</sup> Coordination and planning meeting of the REMPAN(Radiation Emergency Medical

Preparedness and Assistance Network) 会議で発表し、ロシア、旧ロシア、ヨーロッパ、アメリカおよび中国、韓国を始めとする近隣アジア諸国からの引用と国際共同プロジェクトの構築を開始した。7月の日本創傷外科学会パネルディスカッションにおいてサイトカイン・人工真皮を用いた同時植皮の生着性・術後拘縮性状について結果報告した。また、同日本創傷外科学会パネルディスカッションにおいてケロイド電子線照射後（弱低浸透性放射線治療）の自科脂肪組織由来再生細胞を用いた再生医療の有用性を発表した。更に9月シンガポールにおける第一回アジア・太平洋創傷カンファレンスにおいて創傷治療の科学的進歩、幹細胞を用いた創傷ケアの将来性について講演した。また9月第8回アジア太平洋熱傷学会／第3回アジア創傷学会連合会議で難治性創傷に対する自家脂肪由来再生細胞の有用性について講演した。更に、2011年9月マイアミにおける5<sup>th</sup> International REAC/TS (Radiation Emergency Assistance Center/Training Site) Symposium では間葉系幹細胞の放射線障害に対する治療法の日本における経験を報告した。REAC/TS 会議ではヨーロッパ、アメリカ、アジアの放射線障害治療の専門家が一同に集合したため、今後の研究計画の検討とこれまでの妥当性について継続審議し、proceeding 作成中である。サンクトペテルズブルク卒業後教育医学アカデミーとの放射線医学データベース構築及び再生医療学連携の具体的検討を開始し、研究代表者は客員教授として継続活動中である。

### III. 2012年度

2012年9月Yokohamaで第4回世界創傷治療学会連合会議をsecretary generalとして主催し、50カ国以上、3,500名の参加の元、創傷の世界ネットワーク構築提言と実務検討を、旧ソ連邦、中国、フィリピン、韓国、台湾、シンガポール、インドネシアなど近隣アジア諸国、ヨーロッパ諸国及びアメリカ合衆国専門家と討議し、放射線障害拠点構想の実現とTranscontinental Wound Registry (大陸間創傷登録) データベースへの参加を呼びかけた。局所放射線障害に対する具体的consensusをミニブタを用いた基礎実験での脂肪由来幹細胞を用いた前臨床再生治療検討と臨床実施へ向けての基盤構築した。また、放射線照射後の続発性障害に見られる四肢リンパ浮腫に対する自家脂肪由来幹細胞の基礎検討をマウスを用いた実施したところ、X線30Gy照射後、鼠径周囲の全周切開リンパ管焼灼、リンパ節抜去及び皮膚間隙縫合により放射線障害による続発性リンパ浮腫モデルを確立した。幹細胞を $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1$

$\times 10^6$  数群に分け2週後に周径計測、インドシアン グリーン (ICG) を用いた Photo-Dynamic Eye (PDE) system でのリンパ管開通度の定量評価、LYVE-1 免疫組織染色によるリンパ管再生を詳細検討したところ、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$  数群において周径の有意な改善を認め PDE では  $1 \times 10^6$  数群では collecting lymphatic vessel の再生が見られた。また  $1 \times 10^6$  数群の LUV-1 免疫染色では弁構造を有するリンパ管像が有意に再生発言した。以上から、放射線障害による Quality of Life (QoL) を顕著に制限する、創傷に対する国際提言、データベース構築、リンパ浮腫に対する脂肪幹細胞治療の基盤的検証を行い、今後の国際ガイドライン、治療標準化へむけて提言した。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

#### 1. Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S.

Mesenchymal stem cell therapy for cutaneous radiation syndrome. Health Physics, 09: 858-862, 2010..

#### 2. 秋田定伯

自家脂肪組織由来幹細胞を用いた放射線障害の再生医療  
放射線事故医療研究会会報 21: 6, 2010

#### 3. Akita S, Akino K, Yakabe A, Tanaka K, Anraku K, Yano H, Hirano A.

Basic fibroblast growth factor is beneficial for post-operative color uniformity in split-thickness skin grafting. Wound Repair Regen, 18: 560-566, 2010.

#### 4. Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S.

Non-cultured autologous adipose-derived stem cells therapy for chronic radiation injury. Stem cells International, 532704:1-8, 2010.

5. Kinoshita N, Tsuda M, Hamuy R, Nakashima M, Nakamura-Kurashige T, Matsuu-Matsuyama M, Hirano A, Akita S. The usefulness of basic fibroblast growth factor for radiation-exposed tissue. Wound Repair Regen, 20:91-102, 2012.

#### 6. Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Yamashita S, Hirano A.

Early experiences with stem cells in

treating chronic wounds.  
Clin Plast Surg, 39: 281-292, 2012.

7. Hikida M, Tsuda M, Watanabe A, Kinoshita A, Akita S, Uchiyama T, Yoshiura KI.

No evidence of association between 8q24 and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without palate in Japanese population.

Cleft Palate Craniofac J. 2011, epub ahead of print.

8. Oashi K, Furukawa H, Akita S, Nakashima M, Matsuda K, Oyama A, Hayashi T, Hirano A, Yamamoto Y.

Vascularised fat flaps lose 44% of their weight 24 weeks after transplantation.

J Plast Reconstr Aesthet Surg, 65: 403-409, 2012.

9. Hayashida K, Akita S.

Quality of pediatric second-degree burn wound scars following the application of basic fibroblast growth factor: Results of a randomized, controlled pilot study.

Ostomy Wound Manage, 58: 32-36, 2012.

10. Akita S, Yoshimoto H, Ohtsuru A, Hirano A, Yamashita S.

Autologous adipose-derived regenerative cells are effective for chronic intractable radiation injuries

Radiat Prot Dosim, 151: 656-660, 2012.

〔学会発表〕 (計 69 件)

1. Yoshimoto H, Hirano A, Akita S.

Autologous adipose-derived stem cell therapy for chronic radiation injuries.

International Workshop of Wound Technology/European Tissue Repair Society joint meeting, January 18, 2010

2. 秋田定伯 吉本 浩 竹下順子 山下俊二 平野明喜

自家脂肪由来幹細胞を用いた放射線障害に対する再生医療

第 53 回日本形成外科学会、金沢、4 月 9 日、2010 年

3. Akita S, Akino K, Yoshimoto H, Hirano A, Yamashita S.

Autologous adipose-derived stem cells enhance wound healing and fat regeneration.

SAWC/WHS annual meeting, international session, Orlando, Florida, USA, April, 2010

4. Akita S.

Regenerative medicine for intractable skin ulcer and lipodystrophy.

St.Petersburg medical academy of postgraduate studies 125<sup>th</sup> anniversary joint conference on biomedical sciences. St. Petersburg, Russia, June 10, 2010

5. Akita S.

St. Petersburg Medial Academy of Postgraduate Studies, Visiting professor, Burn, Scar, Trauma management and regenerative medicine, St. Petersburg, Russia, November 18-20, 2010

6. Akita S.

Autologous stem cell delivery Wound healing congress St. Thomas, Virgin Islands, USA, December 11, 2010

7. Akita S.

Mesenchymal stem cell therapy for local radiation injuries-Nagasaki experience 13<sup>th</sup> Coordination and planning meeting of the REMPAN, Speaker, Nagasaki, February 16-18, 2011.

8. Akita S.

Adult stem cell therapy and radiation injury

1<sup>st</sup> Cell Society meeting, Invited Lecture, La Jolla, California, February 18-19, 2011.

9. Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Ohtsuru A, Hayashida K, Hirano A, Suzuki K, Yamashita S.

Mesenchymal stem cell therapy in local radiation injuries-A Japanese approach. 5<sup>th</sup> International REAC/TS (Radiation Emergency Assistance Center/Training Site) Symposium, Miami, September 27-29, 2011. Invited lecture

10. Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Ohtsuru A, Hayashida K, Hirano A, Suzuki K, Yamashita S.

Autologous mesenchymal stem cell therapy in local radiation injury-A Japanese approach.

3<sup>rd</sup> International conference on regenerative surgery, Rome, December 14-16, 2011. Invited lecture

11. 秋田定伯、吉本 浩、林田健志、山下俊二、平野明喜

局所慢性放射線障害に対する再生医療

第 55 回日本形成外科学会 総会 2012 年 4 月、東京

12. Akita S

The ideal perspectives for wound healing reimbursement  
World Union of Wound Healing Societies,  
Yokohama, Japan, September, 2012  
WUWHS2012 symposium

13. 吉田周平、秋田定伯、吉本 浩、Hamuy R、浜田裕一、平野明喜

下肢リンパ浮腫モデルにおける脂肪由来幹細胞を用いたリンパ管再生療法  
第 21 回日本創傷外科学会 基礎学術集会  
2012 年 10 月、福島

14. Akita S

Role of autologous stem cells in DM and related intractable chronic wounds  
9<sup>th</sup> Asia Pacific conference on diabetic limb problems, November 24-25, 2012, Invited lecture

〔図書〕(計 12 件)

1. Akita S.

Prevention of scar using bFGF\_  
Chapter 9: Color atlas of burn reconstructive surgery. Pp. 62-71, Eds. Hyakusoku H, Orgill DP, Teot L, Pribaz JJ, Ogawa R, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 499 pages in total, 2010  
Akita S, Editions MF, Paris, October, 2010, 51 page 3.

2. Akita S.

Surgical management of pressure ulcers. Surgical wound Management, Second Edition Eds. Mark S. Granick and Luc Teot, Informa Healthcare, London, 2012 186 pages.

3. 吉本 浩、秋田定伯、平野明喜  
肥厚性瘢痕・ケロイドの非手術的治療  
創傷のすべて 市岡滋 監修、安部正敏、溝上祐子、寺師浩人編集、克誠堂出版、2012 年、総ページ数 403、東京

4. Murakami C, Fujioka M, Akita S.  
How to manage radiation injuries. Skin Necrosis, Eds. Teot L, Meaume S, Del Mamol V, Akita S, Ennis WI, Springer-Verlag, Heidelberg, in press..

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：間葉系幹細胞の培養方法および間葉系幹細胞を用いてなる培養臓器

発明者：秋田定伯

権利者：秋田定伯、秋野公造、中川浩志

種類：特許開示

番号：2005-34030

出願年月日：2005 年 2 月 10 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 2 件)

名称：TRANSGENIC MOUSE MODEL FOR PITUITARY DISORDERS ASSOCIATED WITH LIF OVER-EXPRESSION AND/OR GH UNDEREXPRESSION AND ITS USE FOR TESTING THERAPEUTIC DRUGS FOR THE CONDITIONS

発明者：Melmed S, Akita S, Readhead C

権利者：Melmed S, Akita S, Readhead C

種類・番号：US patent 5,824,838/European 0194419B1

取得年月日：October 20, 1998US/June 30, 2004, Europe

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/plastics/>

<http://www.wuwhs.org/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋田 定伯 (AKITA SADANORI)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：90315250

(2) 研究分担者

山下 俊一 (YAMASHITA SHUNICHI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30200679

大津留 晶 (OHTSURU AKIRA)

福島県立医大・医学部・教授

研究者番号：00233198

藤岡 正樹 (FUJIOKA MASAKI)

独立行政法人国立病院機構・長崎医療センター・研究員

研究者番号：70393452

長谷 敦子

長崎大学・病院・准教授

研究者番号：50228037

(3) 連携研究者

該当なし