

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09489

研究課題名(和文) 物理的けん引によるメカノバイオロジー効果の解明と再生治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of mechanobiological effects by physical traction and its application to regenerative therapy

研究代表者

宇田 宏一 (Uda, Hirokazu)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20337306

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)：ブタ及びラットの実験モデルを使用して、体外式組織拡張器による陰圧負荷で皮膚・皮下組織を物理的にけん引することによるメカノトランスダクション効果を調査した。皮膚のリモデリングが進み、また皮下においては毛細血管の新生が促されることが示された。これは皮下移植床の肥沃化が生じたことを意味し、脂肪移植の生着率からそのメカノトランスダクション効果による移植床の肥沃化と考えられた。加えて、このメカノトランスダクション効果は、持続的な陰圧負荷によるけん引よりも間欠的な陰圧負荷によるけん引のほうが高いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪移植による乳房再建に於いて、体外式組織拡張器を併用することで、その物理的けん引がメカノバイオロジー効果によって移植床を肥沃化して脂肪生着率を向上するという臨床報告が基礎的にある程度裏付けられた。さらに、その効果は持続的な陰圧負荷によるけん引よりも間欠的な陰圧負荷によるけん引のほうが高いことを示すことができた。これにより、脂肪移植を併用した乳房再建に加えて、将来的にはあらゆる軟部組織欠損部の再建、瘢痕拘縮や放射線障害などの組織の再生治療に応用させるための足がかりとなったと思われる。

研究成果の概要(英文)：Using experimental models of pigs and rats, the mechanotransduction effect of physically stretching the skin and subcutaneous tissue with a negative pressure load by an extracorporeal tissue expander was investigated. It was shown that skin remodeling progressed and that the formation of capillaries was promoted under the skin. This meant that the subcutaneous transplant bed was fertilized, and from the survival rate of fat transplantation, it was considered that the transplant bed was fertilized due to its mechanotransduction effect. In addition, it was suggested that this mechanotransduction effect was higher in stretching by intermittent negative pressure loading than by stretching by continuous negative pressure loading.

研究分野：形成外科

キーワード：メカノバイオロジー 再生治療 体外式組織拡張器 脂肪移植

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂肪移植による乳房再建において、体外式組織拡張器の併用により、物理的けん引によるメカノバイオロジー効果による移植床の肥沃化と欠損皮膚の伸展効果によって、臨床的に優れた結果が報告され、我々も追試により良好な結果を報告している。しかしその機序は基礎的データに乏しく未知のまま、適応も乳房再建のみに限局されている。装置装着のプロトコルも臨床家の経験のみで決められており、最適化試験などは皆無である。加えて装着時の皮膚合併症が問題視され、FDAの認可が下りずにこのデバイスは供給困難となり、現在は事実上の臨床使用が難しくなった。そのため物理的牽引によるメカノバイオロジー効果による組織の伸展・肥沃化には乳房再建のみでなく、形成外科領域に於いて幅広く軟部組織の再生治療の大きな可能性が考えられるにもかかわらず、その機序は不明なままだった。はたして、体外からの物理的牽引が移植床の皮膚および皮下組織にどのようなメカニズムでどのような変化を生じさせ、組織を肥沃化するのか。また、脂肪移植と併用した時など、臨床においてどのようなプロトコルが真に有効なのかなど未解決のままであった。

2. 研究の目的

物理的けん引によるメカノバイオロジー効果が、皮膚・皮下組織に与える影響を基礎的に解明した腕でプロトコルを最適化し、拡張器単独もしくは脂肪移植の併用による軟部組織欠損、瘢痕拘縮、放射線障害などの幅広い再生治療の礎を築くため、本研究を立案した。

3. 研究の方法

1) ブタの体外式組織拡張器装着モデルの作製

ブタに体外式組織拡張器である BRAVA® を装着し、陰圧 40mmHg で 5 日間の持続けん引を行った群とコントロール群を作製し、それぞれ皮下組織内酸素分圧、体表皮膚と局所の肉眼所見、皮膚・皮下組織の組織学的所見、加えて共焦点レーザー顕微鏡を使用して、皮下脂肪の観察を行った。また、加えて間欠的陰圧サイクルモデル (15 分間の 4.0mmHg 持続陰圧後に 2 分の陰圧解除 5 日間) も作製し、同一の観察をない、物理的けん引によるメカノトランスダクション効果を比較検討した。

2) ラットの体外式組織拡張器装着モデルの作製と脂肪移植

ラットで同様のモデルを作製した。背部皮膚を 5 日間 25mmHg 持続けん引した群、間欠牽引した群 (15 分の持続けん引後 2 分の陰圧解除の繰り返し)、そしてコントロール群の 3 群において、単径部から脂肪を採取して背部皮下に移植し、移植 4 週間後に取り出して生着率を調査した。また、移植の際に 3 群の背部皮下を一部採取し、Lectin および Hoechst 33342 による免疫染色を行い、皮下毛細血管を定量評価した。

4. 研究成果

1) ブタモデルにおける所見

ブタの皮下の組織内酸素分圧は、体外式拡張器装着して陰圧を負荷した後に低下した。このことは、陰圧負荷によって皮下組織に低酸素状態が生じていることが示唆された。また、肉眼的所見においては、装着部位の皮膚のうっ血様の色調変化、そして表皮の脱落を認め、陰圧によって皮膚のターンオーバーが促進されていることが示唆された。また、真皮直下血管網が陰圧負荷無しのコントロール部位と比べて、その密度が増し、血管が増生しているように見られた。また一部では血管が破壊され、血管外に血液の漏出も認められた。皮膚、皮下組織の物理的伸展により破壊されたと考えられた。一方、深部皮下においては浮腫状となっており、皮下組織と筋膜間の疎な結合組織内にやや血清の漿液の貯留を認めた。組織学的観察においては、表皮および真皮の肥厚が生じており、さらに真皮のコラーゲン繊維は破壊され一部断裂し、真皮が急激に伸展している所見を呈していた。共焦点レーザー顕微鏡での観察では、コントロールと比べて陰圧による物理的けん引のかかる長軸方向に沿うように新生血管の増生を認め、これにより虚血および物理的けん引によって血管新生が促されたことが示唆された。一方、皮下脂肪細胞自体には著明な変化は観察されず、脂肪細胞の増大もしくは破壊による現象は認めなかった。追加実験として行った間欠的陰圧負荷群に於いては、肉眼的には、まず拡張器内の皮膚の伸展膨隆度合いが、持続陰圧負荷群よりも明らかに高かった。また特に、持続的陰圧負荷群にも認められた真皮直下の血管網の増生は、間欠的陰圧負荷群において有意に強く認められた。また、真皮コラーゲン繊維の破壊断裂の程度も間欠的陰圧負荷群のほうが強い印象だった。これらより、間欠的陰圧負荷による皮膚の伸展と弛緩の繰り返しによって、持続的陰圧負荷よりも高いメカノトランスダクション効果が生まれ、皮膚の伸展、細胞増生、並びに皮下の新生血管の増生を促す可能性が示唆された。

2) ラットモデルにおける皮下毛細血管定量

Lectin 及び Hoechst 33342 による免疫染色をおこない、皮下毛細血管を定量評価した。コントロール群 (A 群)、持続けん引群 (5 日間、25mmHg; B 群)、間欠けん引群 (5 日間、15 分の持続けん引の後 2 分間の陰圧解除の繰り返し; C 群) のうち、A 群 < B 群 < C 群 の順でそれぞれに有意に毛細血管の増生を認めた。これにより、物理的けん引によって血管新生が促され、さらにその効果は持続けん引よりも間欠的けん引のほうが有意に高いことが定量的に示唆された。

3) ラットモデルにおける皮下毛細血管定量

結果は、A 群に比べて B 群、C 群の移植脂肪の質量が有意に高かった一方、B 群と C 群には明ら

かな有意差は認めなかった。移植床の肥沃化は間欠的けん引のほうが優れていると思われたが、脂肪採取ならびに移植の手技的な影響、個体差、および n 数の問題で有意差が生じなかったと考えられた。

4) 未達成事項と今後の展望

当初の予定では、ブタモデルを使用して上記の実験を行う予定であったが、装着の困難性、また経費的な問題でラットへとモデルの変更を余儀なくされたことは残念であった。また、期間内に最適プロトコールとともに人への使用の可能な体外式組織拡張器デバイスの開発まで到達したかったが、適わなかった。今後は、得られた知見をもとに、脂肪移植を併用した乳房再建に加えて癒痕拘縮の治療などの臨床試験に導き、そして将来的にはあらゆる軟部組織欠損部の再建、癒痕拘縮や放射線障害などの組織の再生治療に応用させていきたい。

5) 結論

体外装着式のデバイスを用いて陰圧負荷によって皮膚及び皮下組織を間接的に伸展させることで、皮膚のリモデリングが進み、皮下毛細血管の新生が促されることで皮下移植床の肥沃化が生じることが明らかになった。さらにそれには持続的な陰圧負荷によるけん引よりも間欠的な陰圧負荷によるけん引が有効であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	吉村 浩太郎 (Yoshimura Kotaro) (60210762)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	

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