

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09498

研究課題名（和文）多血小板血漿による創傷治癒過程における脂肪誘導の検討

研究課題名（英文）Study of the adipo-induction on the wound healing with platelet-rich plasma

研究代表者

楠本 健司（KUSUMOTO, Kenji）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：20161630

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）：多血小板血漿（PRP）は、全血を遠心分離して得られる濃縮血小板を含む血漿液である。血小板は活性化されると血小板が含有する多種多量の細胞成長因子（サイトカイン）を放出させて、投与部位での創傷治癒や組織改善、細胞増殖に寄与する。これまで報告者が行ってきた創傷治癒過程へのPRP投与での組織反応として、線維芽細胞の増生による創傷治癒促進とともに脂肪組織を誘導する組織所見を得ている。今回、PRPを皮膚軟部組織欠損での脂肪組織の誘導を検討する研究を立案した。最初にPRPを同じ全血からほぼ一定の活性化PRPを得て、創部へ活性化PRPを投与することで、創傷皮膚の皮下に脂肪増生を見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

創傷治癒において、創閉鎖がなされるだけでなく、強度の瘢痕化を回避して脂肪増生を導くのであれば、これは再建、再生として臨床における良好な創傷治癒を導くことができる。今回、PRPを皮膚軟部組織欠損で脂肪組織の誘導を検討し、その機序を検討する研究を立案した。最初にPRP自体が一定化することから検証した。同じ全血からほぼ一定の活性化PRPを得ることができるようになった。また、創傷治癒過程に、活性化PRPを添加することで、皮下に脂肪組織を増生させた。創傷は、線維芽細胞の増生により瘢痕性に治癒することが一般であるが、脂肪組織の誘導が叶うことは、理想的な創傷治癒に近づいたことを示したといえる。

研究成果の概要（英文）：Platelet-rich plasma, PRP, is a plasma including condensed platelets. Once platelets are activated, from alpha-granules inside a platelet many and various cytokines are released to promote wound healing, tissue improvement and cell proliferation at the applied site. To now this reporter has histologically found out adipo-induction at the PRP application site against wound healing stages, at the same time of promotion of wound healing with fibroblast proliferation. In this time, the experimental study to clarify adapt-induction at the soft tissue defect with PRP treatment has been planned. After almost uniform of PRP has been made, subcutaneous adipogenesis is shown at the wound healing site with an activated PRP.

研究分野：形成外科学

キーワード：多血小板血漿 再生医療 脂肪誘導 創傷治癒 PRP

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

PRP は、これまで慢性創傷や腱損傷などの創傷治癒やシワ治療で、主に線維芽細胞と血管の増生とコラーゲンを生じ、創傷治癒過程の「増殖期」から「瘢痕成熟期」を導く。この PRP 療法の作用原理の根本は、目的部位への細胞増殖因子の投与に他ならない。PRP の有効性は創傷治癒促進に留まらず、脂肪を誘導し、この量的調整を含めた治癒を得ることが出来れば、創傷治癒の質の大いなる改善に繋がる。つまり、慢性創傷、種々の瘢痕、遊離植皮部、肌の大いなる質の改善を導くことになる。

### 2. 研究の目的

マウスを用いた実験にて、定格化した背部創傷を作成して、多血小板血漿を付加して、

(1) 多血小板血漿 (PRP) は、脂肪を誘導するか？

(2) 創傷治癒の質の改善に寄与するか？

を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) PRP の調整の検討

10 尾のマウス (C57Bl6/J, Male, 9 週, 体重約 25g) から脱血して、10cc の全血を貯血した。これを double spin 法 (Kusumoto, et al.) によって高濃度血小板を含む PRP を調整して、血小板数を計測した。一方、同時に得たトロンビンと  $\text{CaCl}_2$  を活性化剤として付加して活性化 PRP を得た。これに従い本研究において使用する標準的活性化 PRP を設定した。

#### 2) 皮膚軟部組織欠損モデル作成

マウス背部に、6mm 直径の皮膚軟部組織欠損創 (皮膚と筋膜を切除する) を作成した。十分の止血後、周囲にプラスチックリングを縫い付け固定した。創部を観察と周囲のプラスチックリングの接着が問題なく継続されていることを確認して、定めた期日に組織切片を作成して、筋膜下の切除が正しく行えているかを HE 標本で確認した。

#### 3) 評価

PRP 投与後、7, 14, 21 日に組織を摘出し組織学的検討を行った。

(1) 規格化した欠損部の肉芽、上皮化を写真撮影。

(2) それぞれの欠損治癒部を摘出し、HE 染色し、誘導脂肪と肉芽の再生の組織学的検討を行った。

(3) ImageJ を用いて、脂肪組織領域の抽出と脂肪組織領域/再生領域を画像解析した。

### 4. 研究成果

報告者が、今回の軟部組織の創傷治癒実験で PRP 投与により脂肪組織を誘導する所見を得た。

(図 1 : 矢印は新規増生した皮下から筋膜上に位置する脂肪組織を示す ; Kusumoto 未公表データ)。

多血小板血漿 (PRP) の原理は、全血を遠心分離することにより得た濃縮血小板を含む血漿である。血小板を活性化することで血小板内の  $\alpha$  顆粒から多種多量の細胞増殖因子 (サイトカイン) を放出させて目的部位の組織増生や細胞増殖を促す PRP 療法であるが、本法は安心安全で最も安価な再生医療として期待されてきている。

報告者が行ってきた PRP 負荷実験的動物創傷治癒実験で、創傷治癒の促進の結果が多く得ら

れてきた。しかし、上皮化や線維芽細胞の増生（いわゆる癒痕化）の所見が認められているが、皮膚軟部組織への PRP 投与で脂肪組織再生の報告はない。再建すべき皮膚軟部組織の欠損で脂肪組織を誘導できることは、慢性創傷、遊離植皮、癒痕・ケロイド、加齢現象、変性皮膚などの体表の再生や再建に極めて有利である。

従来、PRP は創傷治癒を促進することの有効性は報告されてきているが、脂肪誘導の報告は無く、今後の PRP 療法を用いた組織再建による医療的適応拡大につながり、PRP 療法による癒痕の質の改善につながるものと推察された。

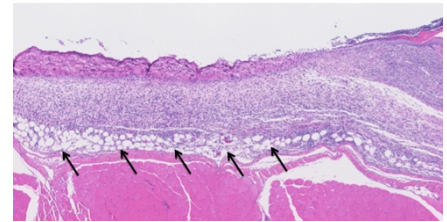


図1 脂肪増生

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 楠本健司	4. 巻 4
2. 論文標題 美容外科領域における再生医療汎用化に関する諸問題 - 多血小板血漿 (PRP) 療法を中心に -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Belle Pelle	6. 最初と最後の頁 45
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 無
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 Kakudo N, Morimoto N, Ma Y, Kusumoto K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Differences between the Proliferative Effects of Human Platelet Lysate and Fetal Bovine Serum on Human Adipose-Derived Stem Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 E1218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells8101218.	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 Ma Y, Kakudo N, Morimoto N, Lai F, Taketani S, Kusumoto K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Fibroblast growth factor-2 stimulates proliferation of human adipose-derived stem cells via Src activation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem cell research & therapy	6. 最初と最後の頁 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13287-019-1462-z	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 Kakudo N, Morimoto N, Ogawa T, Kusumoto K.	4. 巻 84
2. 論文標題 Effects of Fibroblast Growth Factor-2 Combined With a Collagen/Gelatin Sponge for Adipogenesis in the Mouse Subcutis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of plastic surgery	6. 最初と最後の頁 216-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SAP.0000000000002046	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 Kakudo N, Morimoto N, Ogawa T, Taketani S, Kusumoto K.	4. 巻 52
2. 論文標題 FGF-2 combined with bilayer artificial dermis composed of collagen matrix prompts generation of fat pad in subcutis of mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical molecular morphology	6. 最初と最後の頁 73-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-018-0203-1	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 Lai Fangyuan, Kakudo Natsuko, Morimoto Naoki, Taketani Shigeru, Hara Tomoya, Ogawa Takeshi, Kusumoto Kenji	4. 巻 9
2. 論文標題 Platelet-rich plasma enhances the proliferation of human adipose stem cells through multiple signaling pathways	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cell Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13287-018-0851-z	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 Kakudo N, Morimoto N, Ogawa T, Taketani S, Kusumoto K.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 FGF-2 combined with bilayer artificial dermis composed of collagen matrix prompts generation of fat pad in subcutis of mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical molecular morphology	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-018-0203-1	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 Notodihardjo SC, Morimoto N, Kakudo N, Mitsui T, Le TM, Tabata Y, Kusumoto K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Comparison of the efficacy of cryopreserved human platelet lysate and refrigerated lyophilized human platelet lysate for wound healing.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2018.10.003	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 Le TM, Morimoto N, Mitsui T, Notodihardjo SC, Munisso MC, Kakudo N, Kusumoto K.	4. 巻 14(2)
2. 論文標題 The sustained release of basic fibroblast growth factor accelerates angiogenesis and the engraftment of the inactivated dermis by high hydrostatic pressure.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0208658頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0208658	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 Notodihardjo SC, Morimoto N, Kakudo N, Mitsui T, Le TM, Tabata Y, Kusumoto K.	4. 巻 234
2. 論文標題 Efficacy of Gelatin Hydrogel Impregnated With Concentrated Platelet Lysate in Murine Wound Healing.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of surgical research	6. 最初と最後の頁 190-201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jss.2018.09.037	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 楠本健司	4. 巻 147
2. 論文標題 PRP療法の安全管理とトラブルシューティング	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PEPARS	6. 最初と最後の頁 91-94
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 無
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15件(うち招待講演 4件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 楠本健司
2. 発表標題 美容外科領域における再生医療汎用化に関する諸問題ー多血小板血漿 (PRP) 療法を中心にー
3. 学会等名 第62回日本形成外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Kusumoto
2. 発表標題 Application of lipo-injection and lipo-injection with PRP to facial esthetics and deformities
3. 学会等名 6th Chinese Academic Conference on Adipose medicine & 4th International Plastic Surgery Summit (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Kusumoto
2. 発表標題 Reconstruction of periorbital deformities or defects applying various flaps and lipo-injection
3. 学会等名 6th Chinese Academic Conference on Adipose medicine & 4th International Plastic Surgery Summit (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 覚道奈津子, 森本尚樹, 馬園園, 来方えん, 楠本健司
2. 発表標題 ヒト脂肪幹細胞におけるPLTMax Human Platelet Lysateの増殖効果
3. 学会等名 第11回多血小板血漿 (PRP) 療法研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 来方えん, 覚道奈津子, 馬園園, 楠本健司
2. 発表標題 Effect of platelet-rich plasma on the migration of human adipose-derived stem cells
3. 学会等名 第11回多血小板血漿 (PRP) 療法研究会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Sharon Claudia Notodihardjo, Naoki Morimoto, Natsuko Kakudo, Toshihito Mitsui, Tien Minh Le, Yasuhiko Tabata, Kenji Kusumoto
2 . 発表標題 Efficacy of Gelatin Hydrogel Impregnated with Concentrated Platelet Lysate in Murine Wound Healing
3 . 学会等名 5th TERMIS World Congress - 2018 Kyoto, Japan ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Natsuko Kakudo, Naoki Morimoto, Takeshi Ogawa, Masakatsu Hihara, Priscilla Valentin Notodihardjo, Makoto Matsui, Yasuhiko Tabata, Kenji Kusumoto
2 . 発表標題 Angiogenic effect of platelet-rich plasma combined with gelatin hydrogel granules injected into murine subcutis
3 . 学会等名 5th TERMIS World Congress - 2018 Kyoto, Japan ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Satoshi Kushida, Natsuko Kakudo, Naoki Morimoto, Tomoya Hara, Takeshi Ogawa, Toshihito Mitsui, Kenji Kusumoto
2 . 発表標題 Platelet and growth factor concentrations in activated platelet-rich plasma: a comparison of seven commercial separation systems
3 . 学会等名 5th TERMIS World Congress - 2018 Kyoto, Japan ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Fangyuan Lai, Natsuko Kakudo, Naoki Morimoto, Shigeru Taketani, Tomoya Hara, Takeshi Ogawa, Kenji Kusumoto
2 . 発表標題 Platelet-rich Plasma Enhances the Proliferation of Human Adipose Stem Cells Through Multiple Signaling Pathways
3 . 学会等名 5th TERMIS World Congress - 2018 Kyoto, Japan ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年



1. 発表者名 楠本健司
2. 発表標題 再生医療等安全性確保法と美容医療における社会的意義－PRP療法を中心に－
3. 学会等名 第41回日本美容外科学会総会第133回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 寛道奈津子, 森本尚樹, 馬 園園, 来 方遠, 楠本健司
2. 発表標題 ヒト脂肪幹細胞におけるPLTMax Human Platelet Lysate(hPL)の増殖効果
3. 学会等名 第27回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Kusumoto
2. 発表標題 The Principle of PRP and the Applications in Aesthetic and Plastic Surgery
3. 学会等名 2018 Taiwan Society of Aesthetic Plastic Surgery Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 楠本健司, 森本尚樹, 寛道奈津子, 日原正勝, 福田 智, 三宅ヨシカズ, 笹尾卓史, 竹治幸大
2. 発表標題 多血小板血漿 (PRP) 療法による創傷治癒促進の原理と臨床応用
3. 学会等名 第48回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Kusumoto
2. 発表標題 Platelet-rich plasma and the autologous PRP therapy - the most effective and safe regenerative medicine in the lowest cost
3. 学会等名 The 2nd Japan-Thailand Symposium on Regenerative Medicine and Cell Therapy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 寛道奈津子, 森本尚樹, 馬 園園, 来 方遠, 楠本健司
2. 発表標題 ヒト脂肪幹細胞におけるPLTMax Human Platelet Lysateの増殖効果
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019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	寛道 奈津子  (KAKUDO Natsuko)  (00509490)	関西医科大学・医学部・教授   (34417)	
研究分担者	森本 尚樹  (MORIMOTO Naoki)  (40378641)	京都大学・医学研究科・教授   (14301)	

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