

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K16991

研究課題名(和文) 生体親和性マテリアルを用いた、糖尿病性潰瘍の新規治療法の開発

研究課題名(英文) Investigation of new treatment for diabetic ulcer with the biodegradable scaffold

研究代表者

佐藤 秀吉 (SATO, HIDEYOSHI)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：70528968

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)：生体親和性マテリアル(Extracellular matrix: ECM + Poly(ester-urethane) Ureas: PEUU)をラット大腿に移植し、組織学的な評価、RNA発現量の評価などを行なった。NGF、NGFr、MbpなどのRNA発現量については、優位差は認められなかったが、組織学的評価においてはGFAP(Glial fibrillary acidic protein)陽性領域が優位に実験群で高く、またマテリアル内に伸長する神経繊維を確認した。マテリアル内においては優位な筋組織を中心とした組織再生も認められ、難治性潰瘍における新規治療法開発の一助となり得ると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会が進むに従い、糖尿病の治療も長期化し、それに伴う合併症の増加も今後見込まれている。中でも足を中心とした、糖尿病性足潰瘍については難治性で、患者本人の苦痛や医療資源の増大につながる合併症であり、有効な治療法の開発が望まれる分野である。本研究に使用した、生体親和性のマテリアルは組織再生を誘導させ、皮膚潰瘍などの治癒を促進させる可能性が示唆された。臨床応用され、組織再生能力が確認されれば、前述の医療資源の削減にもつながり、社会貢献の一助を担う可能性があると考えている。

研究成果の概要(英文)：The cellularized, elastic, biocomposite scaffold (Extracellular matrix: ECM + Poly(ester-urethane) Ureas: PEUU) was transplanted to the thigh of rat to evaluate the ability of tissue regeneration. The expressions of RNA related with nerve regeneration had no significant differences among the experimental group, negative and positive control groups. The nerve elongation into the transplanted materials were observed in the immunohistochemical samples. Muscle regeneration were also observed and the strength of regenerated muscle was recovered stronger than preoperative values. The material used in this experimental study should be one of the effective treatment for refractory ulcers represented by diabetic skin ulcers.

研究分野：形成外科

キーワード：組織工学 形成外科 難治性潰瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は生活習慣の変化にともない、近年患者数が増加傾向であるとされている。なかでも合併症として頻度の高い糖尿病性足潰瘍は、患者本人の苦痛のみならず、医療経済的にも有効な治療法が期待される疾患である。また、糖尿病性足潰瘍に限らず、近年、急速に進行する高齢化社会においては、様々な原因の難治性足潰瘍（透析に伴う末梢血管障害、閉塞性動脈硬化症、強皮症などの膠原病）患者が増加しており、その傾向は今後も続くと考えられる。

そうした足潰瘍の原因としては、糖尿病に伴う末梢神経障害や、動脈の器質的狭窄に伴う末梢血流障害が主因とされ、各疾患が引き起こす足潰瘍の病態に応じて、外科的処置や薬物治療が行われているが、いまだに難治性の病態が存在する。現行治療に抵抗性の潰瘍に対しては、組織工学を基にした、再生能力を促進させるためのマテリアルが注目されている。

代表研究者は、細胞外器質(ECM: extracellular matrix)と尿素重合体(PEUU: poly(esterurethane) urea)および間葉系幹細胞で合成されたマテリアルの組織再生促進能に着目し、難治性足潰瘍の治療への応用を検証する。

2. 研究の目的

本研究では、ECMとPEUUおよび間葉系幹細胞により合成されたマテリアルが、難治性足潰瘍の根治療法の可能性となることを立証し、組織工学を応用した新しい方法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究においては、米国 Wagner 研究室より本研究計画で使用する生体親和性マテリアル(Extracellular matrix: ECM + Poly(ester-urethane) Ureas: PEUU)を有償で譲り受けた(図1)。同マテリアルをラット大腿に移植し、組織再生促進能について、組織学的評価、RNA発現量の評価などを行なった(図2)。まず、Lewis Rat(10-12週)を用いて、組織再生に適したECMおよび間葉系幹細胞について、in vivoで検証した。皮膚由来(dermal)、小腸由来、膀胱由来のECMを比較し、皮膚由来のECM(dECM)が肉芽形成促進能、筋組織促進能に優れていることを、組織学的評価、RNA発現量で確認した。同様に間葉系幹細胞についても、筋由来、脂肪由来、骨髄由来それぞれについて比較し、筋由来間葉系幹細胞(MDSCs)が筋再生および神経再生に優れていることを確認した。

続いて、最適化された、dECM+MDSCs+PEUUで合成されたマテリアルをLewis Ratの大腿に作成した組織欠損に移植し、機能的な筋再生が得られているか、検討した。さらに再生された組織が外科的に移植可能かどうかを検証し、難治性潰瘍に対する外科的治療の新たな可能性について模索した。

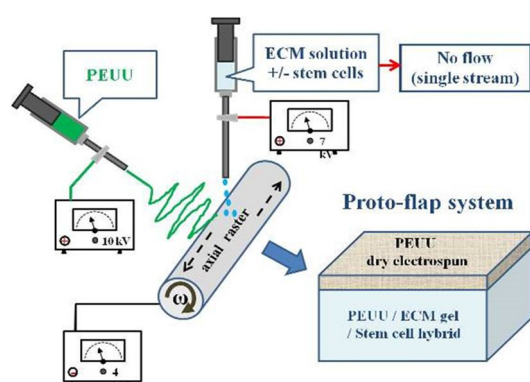


図1. マテリアル作成方法

電位差を利用し、PEUUにECMおよび幹細胞を均一に合成し、シートを作成した。

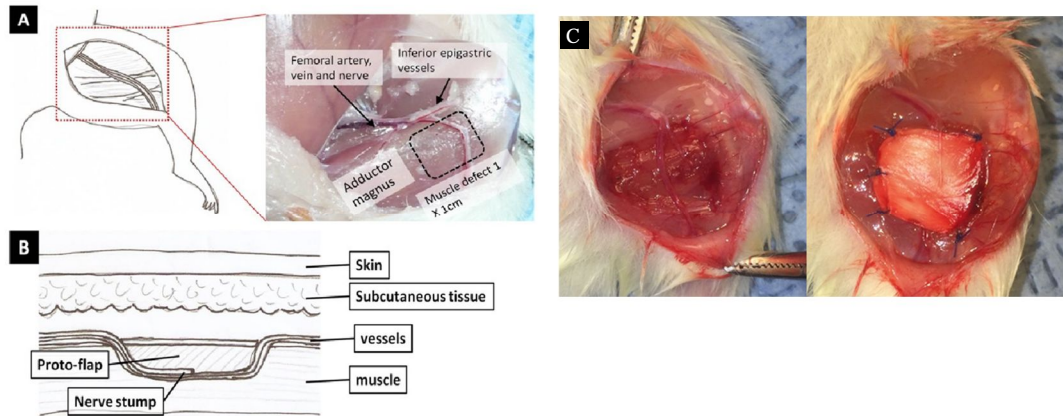


図2. ラット大腿の組織欠損に対してマテリアルを移植した

4. 研究成果

令和5年度は本研究期間中に明らかにされた、生体親和性マテリアルの組織再生能について論文投稿を行ない、acceptされた (Creating and Transferring an Innervated, Vascularized Muscle Flap Made from an Elastic, Cellularized Tissue Construct Developed In Situ.; Hideyoshi Sato, D'Amore A, Wagner WR, et.al.; Adv Healthc Mater. 2023 Nov;12(29):e2301335.)。

以下、報告内容の抜粋、要約を記す。

マテリアルに使用する最適なECMの検証を行い、皮膚由来のECM(dECM)が肉芽形成促進能、筋組織促進能に優れていることを、組織学的評価、RNA発現量で確認した(図3)。

続いて、マテリアルに埋入させる間葉系幹細胞について、最適な幹細胞の検証を行った。

MDSCs群で有意な血管新生、筋細胞の発現、神経成長因子の産生が、PCRおよび組織学的評価において確認された。また、マテリアル内への神経細胞の伸長が組織学的所見として得られた(図5,6,7)。

マテリアルをラット大腿の組織欠損モデルに移植し、筋収縮能をin vivoで評価した。MDSCs群で有意に筋収縮能が高いことを確認した。また、組織学的にマテリアル内に筋組織の新生および有意な厚みのなる軟部組織が形成されていることを確認した。(図8)

上記より、本研究で用いたマテリアルの組織再生能、特に筋組織の再生能に優れていることが確認された。また神経細胞成長因子の増生や組織学的な神経再生などの結果などから、神経再生促進についても可能性が示唆された。

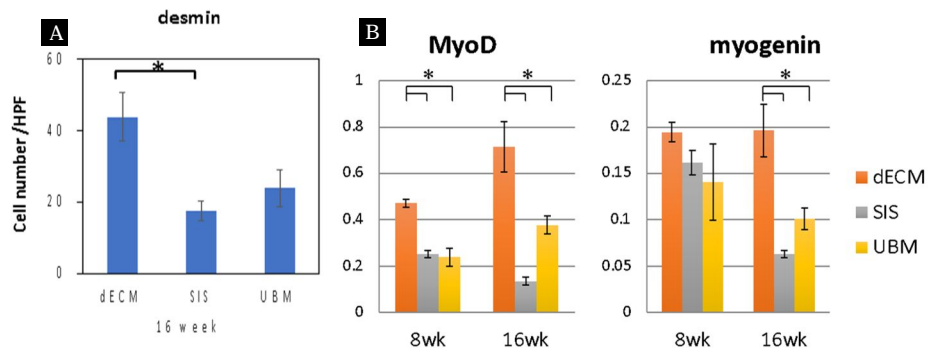


図3.A : 免疫染色によるdesmin発現細胞の確認：dECM群で有意に発現量多い
 B : 幼若な筋細胞に特異的なRNA発現量が、dECM群で有意に多い

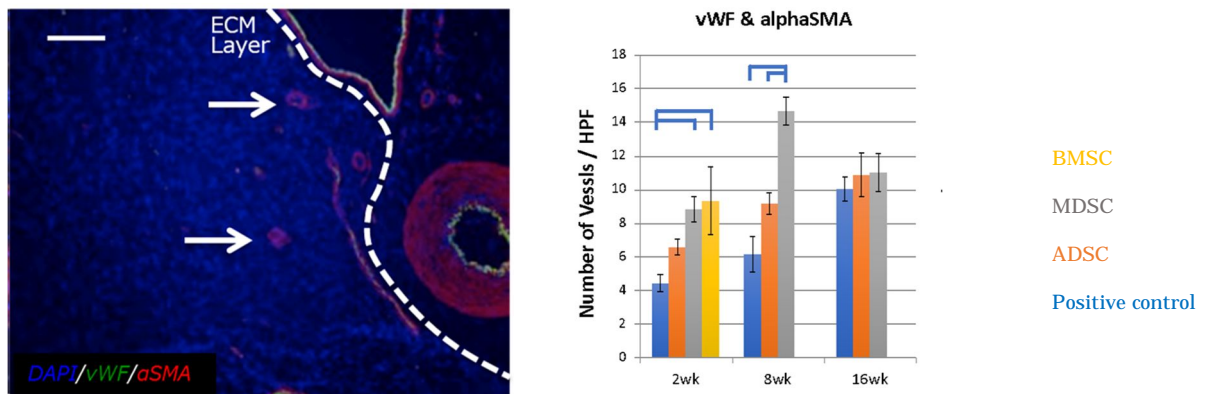


図4. 免疫染色：MDSC 群で血管新生が有意に認められた。

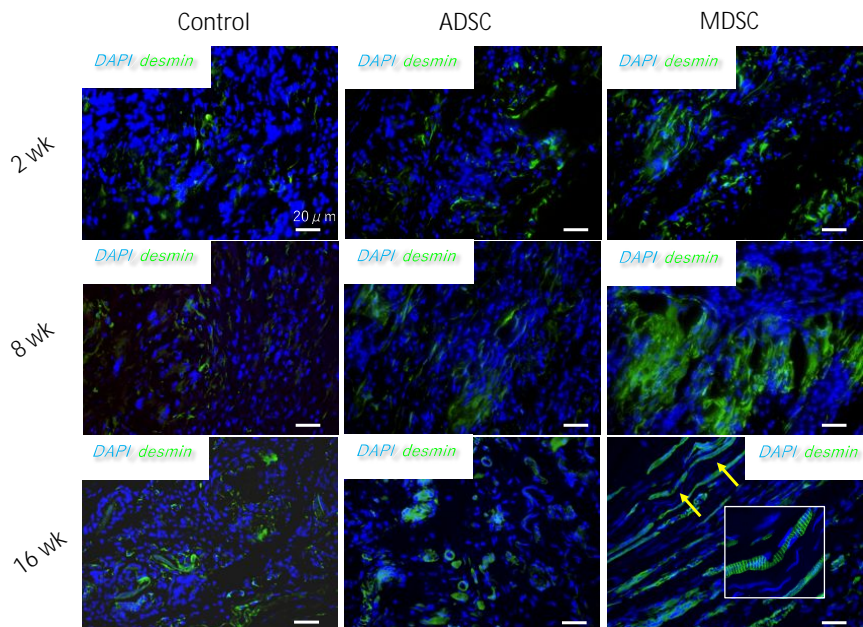


図5:免疫染色：マテリアル内に移植幹細胞由来の筋組織の新生を認める

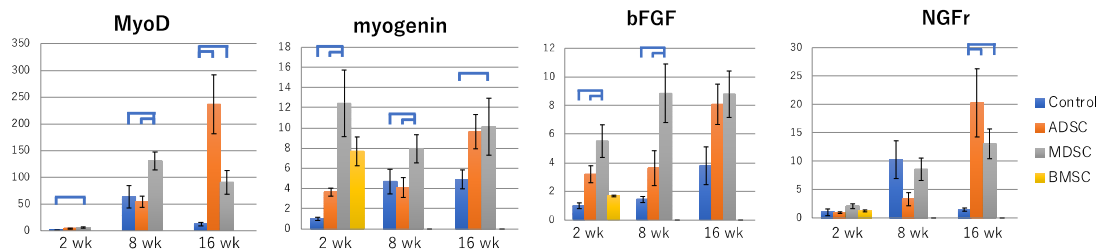


図 6. PCR: 幼若筋細胞マーカーである MyoD, myogenin の発現量、神経成長因子レセプターである NGFr の発現量が MDSCs 群で有意に多い。

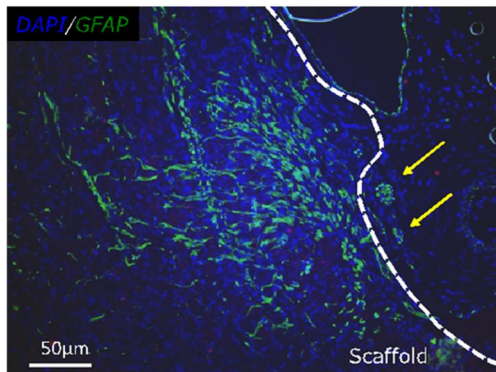


図 7. 神経線維マーカーである GFAP の免疫染色所見：マテリアル内に神経伸長が認められた。

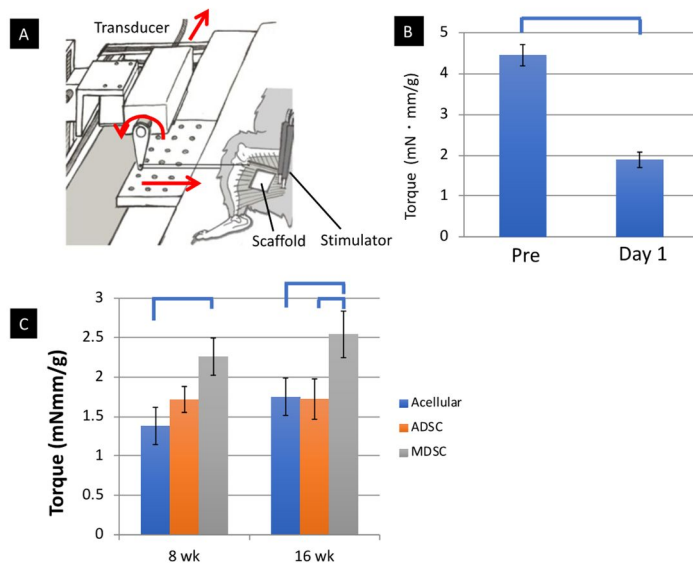


図 8. in vivo での筋組織収縮能評価モデル：マテリアル移植後の大腿四頭筋群の収縮能が MDSC 群で有意に高いことが確認された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Sato Hideyoshi, Kohyama Keishi, Uchibori Takafumi, Takanari Keisuke, Huard Johnny, Badylak Stephen F., D'Amore Antonio, Wagner William R.	4. 巻 12
2. 論文標題 Creating and Transferring an Innervated, Vascularized Muscle Flap Made from an Elastic, Cellularized Tissue Construct Developed In Situ	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advanced Healthcare Materials	6. 最初と最後の頁 e2301335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/adhm.202301335	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hideyoshi Sato
2. 発表標題 Generating a functional muscle flap with the cell-integrated biodegradable elastomer in vivo
3. 学会等名 Congress of World Society for Reconstructive Microsurgery (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hideyoshi Sato
2. 発表標題 The comparison in multi-institutional results of lymphovenous anastomosis.
3. 学会等名 The 14th Korea Japan Congress of plastic and reconstructive surgery (国際学会)
4. 発表年 2018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

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