

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10013

研究課題名(和文) 間葉系幹細胞および血管内皮前駆細胞を用いた放射線障害組織の根本的再生治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a radical regenerative therapy for radiation-damaged tissue using mesenchymal stem cells and vascular endothelial progenitor cells

研究代表者

加持 秀明 (Kamochi, Hideaki)

自治医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：10586366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：7週齢オスのヌードマウスの背部に1回5Gy週2回計40Gyの放射線照射を行い照射終了3ヶ月後に皮膚を切除することにより作成した慢性放射線皮膚障害モデルに対して脂肪組織由来幹細胞(ASC)と脂肪組織由来血管内皮前駆細胞(AEPC)を単独もしくは併用投与を行い創傷治癒能を評価した。ASCとAEPCの併用投与で著明な創傷治癒能の改善がみられたが、いずれの群においても投与細胞の生着は確認できなかった。創傷治癒能の改善には細胞そのものが生着せずとも細胞が分泌する液性因子による影響が大き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

脂肪組織から培養した脂肪幹細胞と血管内皮前駆細胞を局所投与することにより放射線障害組織の創傷治癒能を改善することができる可能性が示された。また今回の研究結果からは、細胞自体を投与しなくとも細胞が放出する物質のみを投与すれば同等に創傷治癒能を改善させることができる可能性が示唆された。細胞自体ではなく細胞が放出する物質であれば工業的に大量生産することも可能であり、適応がさらに広がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A chronic radiation skin disorder model was created by irradiating the back of a 7-week-old male nude mouse with 5 Gy twice a week for a total of 40 Gy and excising the skin 3 months after the end of irradiation. ASC and AEPC were administered alone or in combination to evaluate the wound healing ability. The combined administration of ASC and AEPC showed a marked improvement in wound healing ability, but engraftment of administered cells could not be confirmed in any of the groups. It was suggested that the improvement of wound healing ability is greatly affected by the humoral factors secreted by the cells even if the cells themselves do not engraft.

研究分野：再生医療

キーワード：再生医療 放射線障害 間葉系幹細胞 血管内皮前駆細胞 創傷治癒

### 1. 研究開始当初の背景

患者のQOLが重視され急速に低侵襲化する医療において、放射線治療技術への期待は大きい。また、産業・社会的にも放射線および放射エネルギーの莫大な潜在価値に異論はない。しかし、東日本大震災の福島原子力発電所事故においても問題となったように放射線障害に対する社会の不安は大きく、そのネガティブな部分をいかに軽減できるかがこれからの放射線の有効利用の価値を左右する。

放射線障害には、被ばく線量に比例して出現する確率の高くなる“確率的影響”と、少線量の放射線でも正常組織に必ず与える“確定的影響”が存在する。癌や白血病、遺伝性影響などの“確率的影響”が注目されることは多いが、その一方で“確定的影響”は短期的には顕在化しないために過小評価されている。

放射線障害の確定的影響とは、組織の萎縮、線維化、虚血であり、それらに伴う組織予備能(組織治癒再生能)の低下である。放射線障害組織は、何らかの外科的施術を行った場合、外傷などを起こした場合、もしくは長期に時間が経過して照射組織の恒常性維持が破たんした時に、難治性の慢性放射線潰瘍の形で顕在化することが多い。

近年我が国において放射線治療を受ける患者数は年々増加している。たとえば、頭頸部癌では機能温存の観点から放射線治療の適応が急速に広がってきている。しかし、放射線照射後の頸部が再手術などによるきっかけでひとたび潰瘍化すると、唾液や食物による汚染から感染も伴うことが多く難治化する。また、乳癌は近年患者数増加によって現在女性に最も頻度の高い悪性腫瘍であるが、乳癌においても乳房温存を目的とした乳房温存手術に併用して放射線治療が頻繁に行われている。しかし、その結果として乳房組織は温存されるものの、慢性放射線障害により乳房は萎縮、硬化、拘縮を起こす。そして何らかのきっかけにより潰瘍化するに至るともはや乳房を温存した整容的な意義は失われる。

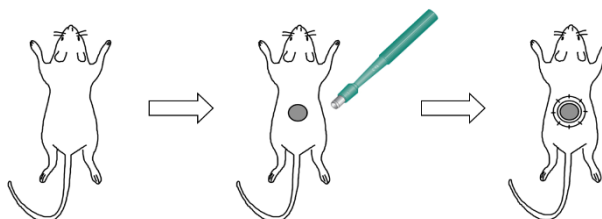
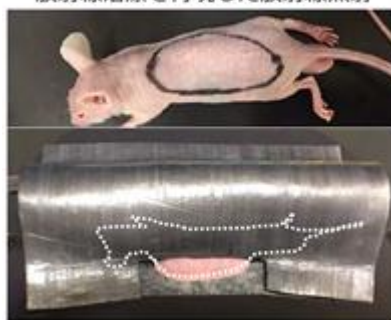
このように患者のQOLを向上させるための放射線治療により、かえって患者のQOLが著しく損なわれることは大きな医学的問題である。しかし、確定的放射線障害の病態に関してはいまだに不明な点が多い上に、明らかに過小評価されておりその深刻な実態が認識されていない。ましてやその根本的な予防法や治療法は皆無であり、この分野の研究は急務である。

### 2. 研究の目的

本研究は、放射線障害組織に対して、失われている機能を回復させることによって根本的に治療する方法を確立することを目的としている。放射線障害組織は、放射線照射により組織が線維化しさらには虚血状態となっているため、硬く冷たくなっている。そこに生じる慢性放射線潰瘍の多くは軟膏処置などの保存的加療では治癒困難であり、たとえ長期の保存的加療により一旦収束したように見えて容易に再発する。すなわち、潰瘍を一時的に閉鎖する治療法ではなく、潰瘍を生じさせている組織の機能自体を根本的に回復させる治療法の開発が求められる。

### 3. 研究の方法

放射線治療を再現した放射線照射



ヌードマウスの背部皮膚を直径6mmのバイオブシーパンチを用いて全層でくりぬく。創収縮を予防するために創周囲皮膚をシリコンリングにて固定する。

臨床的な放射線治療を再現して、ヌードマウスの背部皮膚に総量40Gy(1週間に5Gy×2回、合計4週間)の放射線照射を行う。上図のように、横臥位のヌードマウス全身をドーム状に成型した鉛板で遮蔽し、背部皮膚を鉛板遮蔽から引き出す。この状態で放射線を照射することにより、ヌードマウスの背部皮膚のみに放射線を局所照射することが可能である。放射線照射終了してから3か月後に、放射線照射部位の皮膚を直径6mmのバイオブシーパンチ(Kai industries社)にて全層でくり抜く。創収縮を予防するために創周囲皮膚をシリコンリングにて固定する。シリコンリングは6-0ナイロン糸を用いて皮膚と8か所固定する。創部に下記の異なる条件で細胞投与を行う。細胞は0.2%ヒアルロン酸含有培地100 $\mu$ Lに懸濁して投与し、Vehicle群では0.2%ヒアルロン酸含有培地100 $\mu$ Lを投与する。

群	放射線照射	投与細胞	動物数
コントロール群1	麻酔のみ	なし	6
コントロール群2	40Gy	Vehicleのみ	7
コントロール群3	40Gy	ASC(1x10 <sup>5</sup> )	4
実験群1	40Gy	AEPC(2x10 <sup>5</sup> )	6
実験群2	40Gy	AEPC(5x10 <sup>5</sup> )	5
実験群3	40Gy	AEPC(2x10 <sup>5</sup> ) + ASC(1x10 <sup>5</sup> )	4
実験群4	40Gy	AEPC(5x10 <sup>5</sup> ) + ASC(1x10 <sup>5</sup> )	5
計			44

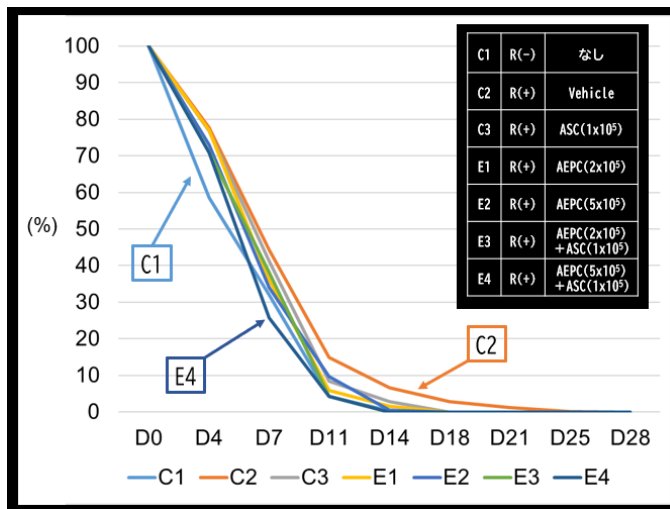
ASC：脂肪組織由来幹細胞 AEPC：脂肪組織由来血管内皮前駆細胞

皮膚欠損創を作成して  
創傷治癒機能を評価する  
(正常組織での経過例)



細胞投与日を0日目として21日目までの創傷部の経過を一眼レフカメラで撮影し、画像解析にて潰瘍面積を算出することにより創傷治癒能を評価する。細胞投与日から28日目に潰瘍部を摘出し、組織学的な解析を行う。ヒトゴルジ体抗体を用いて投与したヒト由来細胞の生着を評価する。

#### 4. 研究成果



脂肪組織由来幹細胞(ASC)と脂肪組織由来血管内皮前駆細胞(AEPC)を単独もしくは併用投与した群では Vehicle 投与群と比較して放射線障害組織の創傷治癒能が改善した。特に併用投与群で創傷治癒能が著明に改善した。病理組織学的評価では、ヒトゴルジ抗体を用いた免疫染色を行ったが、いずれの群においても投与細胞の生着を確認することができなかった。

投与細胞の生着を確認できなかったにもかかわらず創傷治癒能の改善がみられたことから、創傷治癒能改善には投与細胞が分泌する液性因子の影響が考えられた。今回の研究結果からは、細胞自体を投与しなくとも細胞が放出する液性因子のみを投与すれば同等に創傷治癒能を改善させることができる可能性が示唆された。細胞自体ではなく細胞が放出する液性因子であれば細胞培養により工業的に大量生産することも可能であり、また組織採取をする必要がないことから患者負担を大幅に減らすことも可能となるため、適応がさらに広がる可能性がある。

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