

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09790

研究課題名（和文）水素による移植組織内酸化ストレスの制御と生着率向上への試み

研究課題名（英文）Experiment to control oxidative stress in transplanted tissues and improve retention rate by hydrogen.

研究代表者

大谷 直矢（Otani, Naoya）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：00882268

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）：本研究では、内服することで体内で大量の水素を持続的に発生させる効能を待つシリコン製剤が、遊離皮弁移植や脂肪移植における、移植組織内の酸化ストレスの制御や生着率向上に寄与するかを検証した。実験の結果、ラットを用いた血管柄付き遊離皮弁移植モデルや脂肪移植モデルにおいて、シリコン製剤含有飼料を内服させたラットでは、移植後早期の組織の過剰な酸化ストレスや炎症反応が抑制されており、移植組織の生着率が向上することが判明した。よってシリコン製剤は、組織欠損に対する再建術の新たな補助療法として有用である可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管柄付き遊離皮弁移植術においては、血管吻合時のトラブルや血栓閉塞等により阻血時間が長くなった場合、血流の再開後も酸化ストレスによる組織障害が進行することが知られている。また、脂肪移植は血管吻合を伴わない組織移植であり、移植組織の生着には移植床からの血管新生を要するが、血流再開までの間、移植組織は長期間虚血状態に晒され、組織の過剰な炎症反応や吸収が進行する。本研究の結果、シリコン製剤の内服は移植組織の過剰な酸化ストレスや炎症反応を抑制し、生着率向上に寄与することが判明した。シリコン製剤は、組織欠損に対する再建術の新たな補助療法として安全性や効率性の向上に寄与する可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined whether a Si-based agent, which is effective in continuously generating a large amount of hydrogen in the body when taken internally, contributes to controlling oxidative stress in transplanted tissues and improving the retention rate in free flap transplantation and fat grafting. The experimental results showed that in the vascularized free flap transplantation model and fat grafting model using rats, excessive oxidative stress and inflammatory reactions in the tissues were suppressed in the early post-transplant period in rats fed internally with Si-based agent, and the tissue retention rate was improved. Therefore, the Si-based agent may be useful as a new adjuvant therapy in reconstructive surgery for tissue defects.

研究分野：形成外科

キーワード：水素 酸化ストレス 虚血再灌流障害 皮弁移植 脂肪移植

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

身体欠損の再建のために、軟部組織の遊離移植術は欠かすことのできない手技である。移植組織の生着には血行の再灌流が必須であるが、一定時間虚血状態に置かれた組織が血行の再灌流を受けた場合、活性酸素種が過剰に産生され、酸化ストレスによる組織障害が引き起こされることが知られている。

水素による組織内の酸化ストレス抑制効果はこれまで数多く報告されているが、従来の水素水や水素ガスを用いた投与方法では、十分量の水素を継続的に体内へ投与することが困難であった。近年開発されたシリコン製剤は、生体内で大量の水素を持続的に発生させるという、これまでの医薬品とは全く異なる性質を持った新規製剤である。本製剤は、内服することで体内で腸液と反応し、1gあたり飽和水素水 22L 以上に含まれる量に相当する水素を継続的に発生させる事ができる。このシリコン製剤を用いれば、これまでの課題であった水素の効率的な体内への取り込みが可能となり、水素の臨床応用が広がる可能性がある。本研究では、皮膚・軟部組織再建外科分野における水素の治療効果を、このシリコン製剤の使用とラットを用いた動物実験を通して検証する。

2. 研究の目的

本研究では、シリコン製剤より発生する水素の抗酸化作用・抗炎症作用・抗アポトーシス作用が移植組織に与える影響を検証し、移植組織の生着率向上に有効であるかを、ラット腹部皮弁・脂肪移植モデルを用いた動物実験で検証する。

血管柄付き遊離皮弁移植術においては、血管吻合時のトラブルや血栓閉塞等により阻血時間が長くなった場合、血流の再開後も酸化ストレスによる組織障害が進行することが知られている。動物モデルで水素水の腹腔内投与や水素ガスの吸入が皮弁の生着率の向上に寄与するという報告があり、この研究ではまずシリコン製剤の内服により発生する水素が同様の効果を示すかどうかを検証する。また、脂肪移植は血管吻合を伴わない組織移植であり、移植組織の生着には移植床からの血管新生を要する。血流再開までの間、移植組織は長期間虚血状態に晒され、組織のアポトーシスが進行する。水素の抗アポトーシス効果による脂肪移植の生着率への影響も検証し、既に生着率向上の効果が知られている脂肪由来幹細胞(ASC)付加との効果の比較も行う。

3. 研究の方法

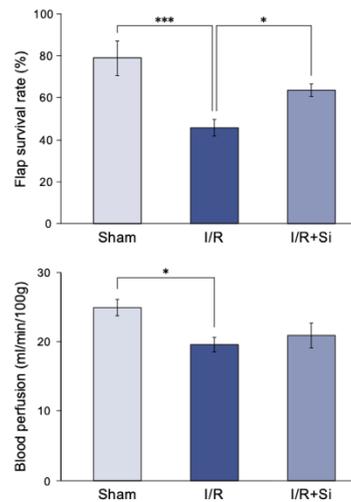
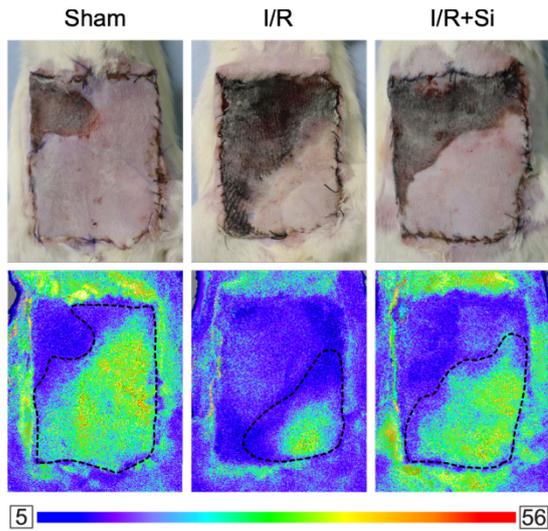
皮弁の虚血再灌流障害に対する効果を検証する実験として具体的には、1%シリコン製剤含有食餌を摂取させたラットと、通常の食餌を摂取させたラットにおいて、下腹部に浅腹壁動静脈を茎とした皮弁を挙上、3時間血管茎のクランプを行った。72時間後時点での肉眼的所見やレーザースペックル血流計を用いた血流評価で、皮弁の生着率を評価・比較した。同時に皮弁組織を採取し、HE染色およびTUNEL染色で組織学的な形態評価・アポトーシスの程度を評価した。また、皮弁組織をホモジナイズし、ELISA法、real-time PCR法を用いて、IL-1 β ・IL-6・TNF α 等の炎症性サイトカインの発現量、MDA等の酸化ストレスマーカーを比較した。

脂肪移植に対する効果を検証する実験として具体的には、1%シリコン製剤含有食餌を摂取させたラットと、通常の食餌を摂取させたラットにおいて、鼠径部より採取した脂肪組織を背部皮下に移植した。さらに、それぞれの群において、ラット皮下脂肪組織より培養したASCを移植脂肪に付加する群と付加しない群に分けることで、計4群を作成した。移植後7日・1ヶ月・3ヶ月時点で移植した脂肪組織を採取し、移植した組織の重量維持率を比較した。また、移植脂肪組織を採取し、HE染色・TUNEL染色で組織学的な形態評価・アポトーシスの程度の評価を行った。また、ホモジナイズした組織中の炎症性サイトカイン、および酸化ストレスマーカーの比較を行った。

4. 研究成果

皮弁の虚血再灌流障害に対する効果を検証する実験の結果、皮弁生存率は虚血再灌流障害を誘導した群(IR群)では、皮弁挙上のみを行った群(Sham群)に比べ著しく低下したが、シリコン製剤を内服した群(IR+Si群)では有意な改善を認めた(下図)。また、I/R群では強い組織学的な炎症所見、アポトーシス細胞の増加、酸化ストレスマーカー上昇、および炎症性サイトカインのmRNA・蛋白発現量の上昇を認めたが、I/R+Si群ではこれらの変化が有意に抑制された。

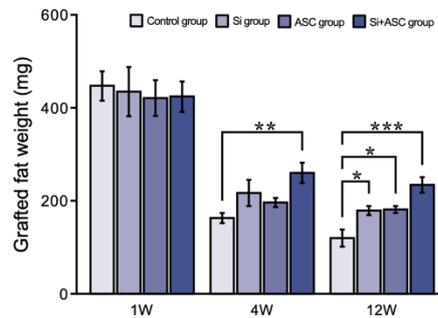
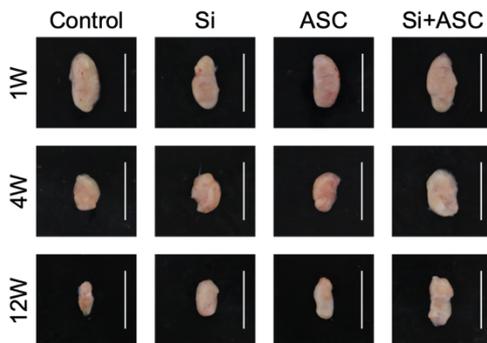
皮弁生存領域・組織血流



(*p<0.05, ***p<0.001; Tukey's test)

また、脂肪移植に対する効果を検証する実験の結果、シリコン製剤の内服と ASC の付加は、移植脂肪組織の炎症所見、酸化ストレスやアポトーシスを有意に軽減させ、移植脂肪の長期生着率を有意に向上させた（下図）。今回の実験条件では、シリコン製剤の内服と ASC の付加は、脂肪移植の生着率に与える影響は同程度であり、この 2 つを組み合わせることでその効果はさらに向上した。

移植脂肪生着率



(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; Tukey's test)

これらの研究の結果、シリコン製剤の内服投与により、皮膚軟部組織における虚血再灌流障害が抑制できることが示唆された。また、移植脂肪組織の炎症所見、酸化ストレスやアポトーシスを有意に軽減させ、移植脂肪の長期生着率を有意に向上させた。さらに、その効果は ASC の付加により相乗効果を認めた。

シリコン製剤を用いることで、高用量かつ持続的な水素投与が容易に行えることから、水素の臨床応用範囲が飛躍的に拡大する可能性がある。今後、皮弁や移植脂肪の生存率の向上に留まらず、様々な酸化ストレスの関連する病態に対して有効性が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Otani Naoya, Tomita Koichi, Kobayashi Yuki, Kuroda Kazuya, Kobayashi Hikaru, Kubo Tateki	4. 巻 online ahead of print
2. 論文標題 Hydrogen-generating Si-based agent improves fat graft survival in rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Plastic & Reconstructive Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PRS.00000000000010919	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 Otani Naoya, Tomita Koichi, Kobayashi Yuki, Kuroda Kazuya, Koyama Yoshihisa, Kobayashi Hikaru, Kubo Tateki	4. 巻 12
2. 論文標題 Hydrogen-generating Si-based agent protects against skin flap ischemia-reperfusion injury in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-10228-6	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大谷直矢, 富田興一, 小林悠輝, 黒田一也, 小林光, 久保盾貴
2. 発表標題 脂肪注入の生着率を向上させる内服治療法の開発-体内水素発生能を有するシリコン製剤の効果検証-
3. 学会等名 第38回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大谷直矢, 富田興一, 小林悠輝, 黒田一也, 小林光, 久保盾貴
2. 発表標題 体内水素発生能を有するシリコン製剤の有用性：皮弁虚血再灌流障害の抑制効果
3. 学会等名 第31回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大谷直矢、富田興一、小林悠輝、黒田一也、小林光、久保盾貴
2. 発表標題 体内水素発生能を持つシリコン製剤によるラット腹部皮弁虚血再灌流障害抑制効果の検証
3. 学会等名 第48回日本マイクロサージャリー学会学術集会
4. 発表年 2021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	富田 興一 (Tomita Koichi) (90423178)	近畿大学・医学部・教授 (34419)	

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