

木下直志 論文内容の要旨

主 論 文

The usefulness of basic fibroblast growth factor for radiation-exposed tissue.
塩基性線維芽細胞増殖因子の放射線照射組織に対する組織防護有用性

木下 直志、津田 雅由、Rodrigo Hamuy、中島 正洋、蔵重 智美、
松山 睦美、平野 明喜、秋田 定伯

Wound Repair and Regeneration

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：平野明喜教授)

緒 言

皮膚軟部組織の大量放射線被曝では皮膚壊死に至ることも多く、その修復には組織移植などの大掛かりな治療を要する。また、外科処置後の放射線照射では手術により血行が悪くなった皮膚への照射によって、皮膚壊死の危険性は一層高まる。最近、放射線照射部に幹細胞や成長因子を外部から補充する事により、皮弁や植皮の生着率が増すことが報告されている。しかし、不可逆的な皮膚壊死を防ぐための予防投与の是非について検討はなされていない。塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)は皮膚欠損部などに血管新生を促し、創傷治癒を促進させるため、日常診療においても頻用されている。そこで、放射線照射後の早期からの bFGF 投与により、放射線潰瘍など皮膚軟部組織障害の防護効果の可能性を検討した。

対象と方法

生後 4 週から 8 週の子豚 35 頭をケタミン/ハイドロクロライド 10mg/kg 筋注麻酔後、胸背部筋膜上に幅 3 cm 長さ 4cm の双茎皮弁を作成し、この皮弁に対して以下の処置を行った。①直径 2 cm の 8cc ラウンドタイプ テッシュエキスパンダーを皮弁下に挿入 (Ex) し、皮弁を伸展させて阻血状態とした。②同部位へ 10Gy 放射線照射を行った(Rad)。③放射線照射直後、3, 5, 7, 10, 12 日目に bFGF20 μ g を皮弁下へ注入 (bFGF) した。また、bFGF の代わりに生理食塩水を同様の方法で投与した群 (solution) も作製した。

処置の組み合わせにより以下の 7 群を作成した。1 群：Rad 単独、2 群：Rad+bFGF、3 群：Ex + Rad+solution、4 群：Ex+Rad+bFGF、5 群：無処置、6 群：Ex+solution、7 群：Ex+bFGF であった。

術後は経時的に皮膚の性状を群間で肉眼的に比較検討した。14 日目に皮膚を採取し、H & E 染色、TUNEL 染色のほか、Ki67、CD34、CD31、von Willebrand factor などの免疫染色を行い、光学的と電子顕微鏡的に比較した。

結果

肉眼的所見では、1,2群と5-7群では潰瘍や皮膚壊死は見られなかった。3群では2例が1日目より発赤を認め、7日目までに3例が潰瘍壊死を形成し、1例に発赤を認め14日目まで持続した。4群では1日目に1例で発赤を認めたが、7日目には軽快し、その後は14日目でも壊死への進行は見られなかった。14日目のH & E染色標本では、3,4群を除く群では特に組織の変化は認められなかった。しかし、3群では表皮に潰瘍の形成があり、表皮から真皮中層にかけて多核の炎症細胞浸潤がみられ、皮膚付属器も減少していた。4群では正常に角化した表皮が見られ、表皮真皮間の好酸性の炎症細胞浸潤も少なく、真皮や皮下組織でも正常構造が保たれていた。TUNEL染色とH & E染色による表皮アポトーシス数の計測では1群でアポトーシスの有意な増加を認めた。3群、6群では5群に比較して有意にアポトーシス細胞の減少を認めた。Ki67免疫染色による表皮基底細胞の細胞増殖能の計測では、1-4群の放射線照射群と6群は正常組織である5群に比べて有意に免疫陽性細胞数が減少していた。7群は1-3群と6群に比べて有意に免疫陽性細胞数が増加していた。CD34、CD31、vWf免疫染色による真皮血管新生発現を検討したところ、CD34、CD31免疫染色では1-4群が5-7群に対し有意に免疫陽性細胞数が減少し、vWf免疫染色では1-4群が5群に対し有意に免疫陽性細胞数の減少を認めた。3つの免疫染色すべてにおいて、4群は3群に対し有意に免疫陽性細胞数の増加を認めた。さらにCD34免疫染色のみ6群は5群に対し有意に免疫陽性細胞数が増加した。

電子顕微鏡所見では、4群は正常な表皮を示した。皮下組織も正常な毛嚢と脂腺を観察した。3群では角化層は損傷され、細胞浸潤を伴う、薄い真皮と少ない皮下組織が観察された。

考 察

今回の群間比較により放射線照射後に増加したアポトーシスがbFGFを用いると有意に抑制された。さらに、今回の結果ではエクспанダー挿入によりアポトーシスが抑制されるという結果となったが、これは皮膚伸展で表皮基底層のアポトーシスを抑制させていることが推測されたものの詳細は不明で今後の検討が必要と思われた。bFGFを用いる事で、エクспанダーにより減少した細胞増殖能が亢進する事がKi67免疫染色で確認された。CD34およびCD31免疫染色とvWf免疫発現の差は血管特性の違いの可能性が示唆された。放射線照射された組織はいずれも、正常組織に対し、血管新生数が減少しているが、エクспанダーを用いた群でbFGFの有無の違いで分けた3群と4群の間には有意差があり、伸展された組織は放射線照射後でもbFGF投与により組織に血管新生がみられることが判った。肉眼所見でもbFGF投与群が正常組織に近く電子顕微鏡像で確認されたことから、局所放射線照射の直後からbFGFを投与することにより、血管新生が促され、表皮再生能が高まり、重篤な皮膚組織障害を回避できることが推測された。