

皮膚の酸化ストレス障害に対する間葉系幹細胞の 治療効果と制御機構の解明

群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学

茂木 精一郎

Cutaneous ischemia-reperfusion (I/R) injury is associated with the early pathogenesis of cutaneous pressure ulcers (PUs). The objective of this study was to investigate the effect of mesenchymal stem cells (MSCs) injection on the formation of PUs after I/R injury and determine the underlying mechanisms. We found that the subcutaneous injection of MSCs into areas of I/R injured skin significantly suppressed the formation of PUs. I/R-induced vascular damage, hypoxia, oxidative DNA damage, and apoptosis were decreased by MSCs injection. Oxidative stress signals detected after I/R in OKD48 (Keap1-dependent oxidative stress detector, No-48-luciferase) mice were decreased by the injection of MSCs. In cultured fibroblasts, MSCs-conditioned medium significantly inhibited oxidant induced reactive oxygen species (ROS) generation and apoptosis. Furthermore, endoplasmic reticulum (ER) stress signals detected after I/R in ERAI (ER stress-activated indicator) mice were also decreased by the injection of MSCs. These results suggest that the injection of MSCs might protect against the development of PUs after cutaneous I/R injury by reducing vascular damage, oxidative cellular damage, oxidative stress, ER stress, and apoptosis.

1. 緒言

加齢による変化によって血管量低下や血管機能障害が生じ、皮膚への血流量が低下して皮膚が虚血になりやすくなることが知られている。さらに、外部からの圧迫や紫外線照射などの外的刺激によって皮膚の虚血が誘導され、低酸素に至りやすくなる。例えば、ベッドなどによる外的圧迫によって生じる皮膚の虚血性潰瘍である「褥瘡」(いわゆる「床ずれ」)は高齢者に生じやすく治りにくい。持続的な圧迫による虚血に加えて、虚血に陥った組織に血液が再還流すると、活性酸素などが発生し、血管内皮細胞や周囲の組織を傷害し、より広範囲に血流障害・組織障害を来することが知られており、これを「虚血再還流障害」と呼び、酸化ストレス障害がその病態に深く関わっている。

褥瘡は皮膚潰瘍が生じる前の「急性期褥瘡」と生じた後の「慢性期褥瘡」に分類される(図1)。褥瘡の発生直後は紅斑や紫斑を呈するが、組織壊死が進行し皮膚潰瘍が出現するまでに1～3週間かかると、この時期を「急性期褥瘡」と呼ぶ。

これまでに、皮膚潰瘍が生じた後の「慢性期褥瘡」に対する数多くの治療法が開発されてきたが、皮膚潰瘍が生じる前の「急性期褥瘡」に対する治療法はガイドラインでも、除圧と創部の保護だけでありエビデンスレベルの高い治療法がない。従って、せっかく皮膚潰瘍に至る前の褥瘡を早期に発見することができても、残念ながら、潰瘍になるまで

急性期褥瘡の新たな治療法を目指して

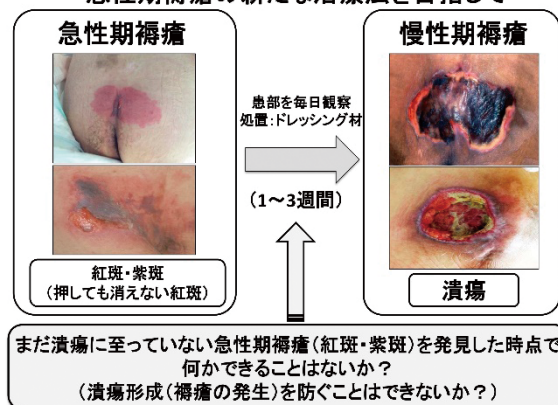


図1

観察していく以外に全く方法がない。この急性期褥瘡の機序を明らかにし、組織障害の進行を防ぐ治療法を開発できれば、その後の潰瘍の発生、拡大を防ぐことができる画期的な治療・予防が期待できる。

今回、我々は間葉系幹細胞(MSC)に注目した。MSCは皮膚創傷治癒においては、血管や表皮細胞への分化、細胞外基質の産生リモデリング、炎症性サイトカインの抑制、血管新生の促進、M2マクロファージの誘導などを介して創傷治癒を促進させることが知られている(図2参照)¹⁾。近年、間葉系幹細胞(MSC)と虚血再還流障害に関する様々な研究がなされている。脳、肝臓、腎臓などの虚血再還流障害モデルにおいてMSCがアポトーシス細胞や酸化ストレス、一酸化窒素合成酵素などを抑制することが知られている。しかし、皮膚の虚血再還流障害に対するMSCの治療効果とその機序は不明である。そこで、今回の研究では、間葉系幹細胞による皮膚虚血再還流障害(酸化ストレス障害)の治療効果と制御機構を明らかにすることを目的とした。



Elucidation of therapeutic effect and regulatory mechanism of mesenchymal stem cells on oxidative stress disorder of skin

Sei-ichiro Motegi

Department of Dermatology, Gunma University Graduate School of Medicine

2. 方法

我々はこれまでにマウスを用いた皮膚虚血再還流障害の実験系を確立してきた。方法としては、2つの磁石を用いてマウス背部の皮膚を挟み、圧迫された部分を虚血させる。

間葉系幹細胞(MSC)と創傷治癒について

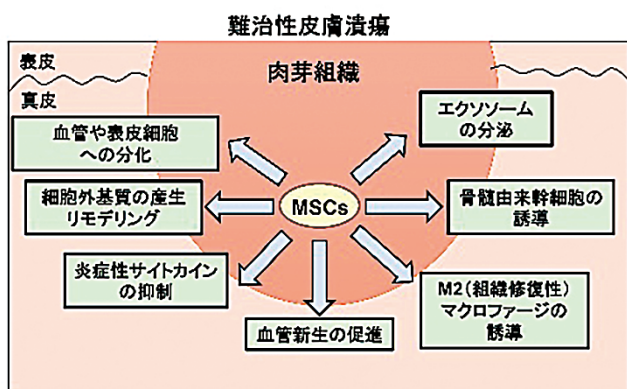


図 2

急性期褥瘡(皮膚虚血再還流障害)マウスモデルによる検討

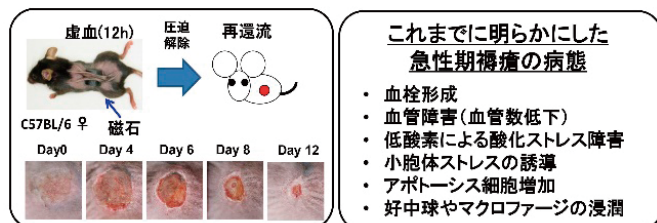


図 3

その状態を12時間持続させ、その後、磁石を外すことで虚血部位に再還流を生じさせる。我々は、これまでに、この皮膚虚血再還流障害(急性期褥瘡)モデルマウスを用いて検討した結果、圧迫部位に多数の血栓が生じ、血管障害による血管量の低下が起こり、虚血、低酸素による酸化ストレスが生じることを明らかにしてきた²⁻⁴⁾(図3参照)。また、圧迫虚血部位に副腎皮質ホルモンを外用したところ、血管数低下、酸化ストレス障害、アポトーシス細胞数が増加し、潰瘍が増悪することも明らかにしてきた⁴⁾。

3. 結果

皮膚虚血再還流障害(急性期褥瘡)モデルを用いて、MSC投与群とコントロール(PBS)投与群における虚血再還流障害後に生じる皮膚潰瘍形成を比較した。再還流させた直後にMSCもしくはPBSを虚血再還流部に局注した。その結果、MSCの皮下投与によって皮膚虚血再還流障害(急性期褥瘡)の後に生じる皮膚潰瘍の形成が抑制されたことを見出した(図4)。また、MSCによる制御機構を解明するため、虚血再還流後の潰瘍部を含む皮膚組織を検討した結果、MSC局注によって血管障害が抑制され、さらに、皮膚の低酸素領域や酸化ストレス障害によるアポトーシスが抑制されることを見出した。

また、我々は、共同研究者の金沢医科大学 岩脇隆夫教授より酸化ストレス可視化マウス(OKD48マウス)を供与いただいている。これらのマウスを用いて、皮膚虚血再還流障害を起こしたところ、MSCの皮下注入によって、急性期褥瘡部位の酸化ストレス、小胞体ストレスが抑制されることを見出した(図4上)。酸化ストレスにより誘導され

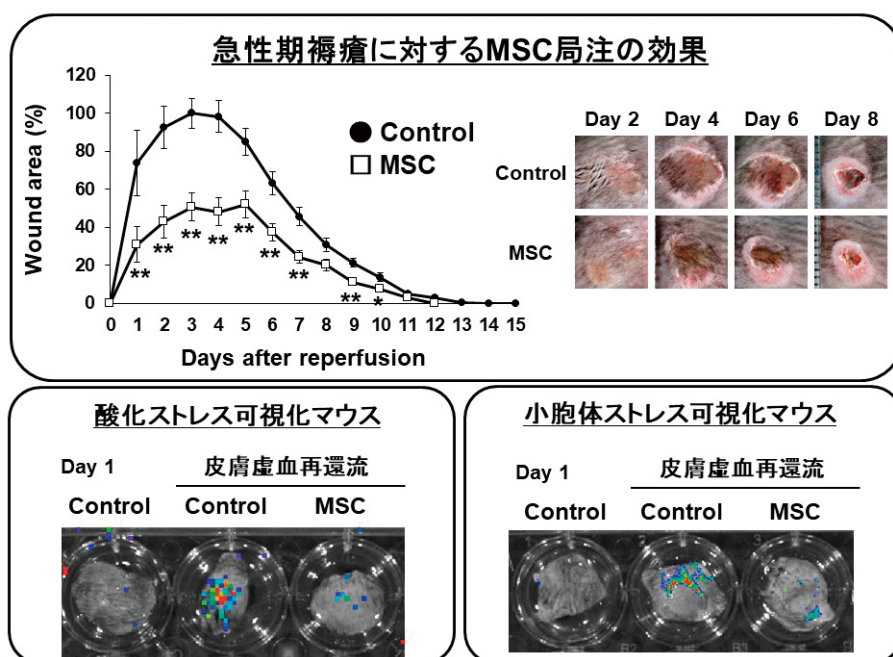


図 4

る因子であるHO-1や活性酸素の産生を調節する因子であるNOX2の発現量もMSCの皮下注入によって抑制された。また、マウス線維芽細胞を用いて、酸化ストレス障害に対するMSCの影響についてin vitroの検討を行った結果、過酸化水素刺激によるROS産生亢進が、MSCの細胞培養上清によって抑制された。これらの結果より、MSCの皮下注入によって、急性期褥瘡部位に生じる血管障害や低酸素による酸化ストレスが抑制され、皮膚潰瘍の形成が抑制されることが示唆された⁴⁾。

また、小胞体ストレス可視化マウス(ERAIマウス)を用いて検討したところ、急性期褥瘡の発生部位では小胞体ストレスが増加し、MSC皮下注入によって抑制されることも見出した(図4)。さらに、小胞体ストレス因子(GRP78/BiP、CHOPなど)が急性期褥瘡部位で増加し、MSC皮下注入によって抑制されることも明らかにした。これらの結果より、MSCの皮下注入が、皮膚虚血再還流障害によって生じる血管障害を抑制し、酸化ストレスや小胞体ストレスを軽減させて、皮膚潰瘍の出現を有意に減少させることを見出した。MSCが急性期褥瘡の新たな治療法への応用が期待できると考えている。

4. 考 察

加齢により皮膚の虚血が生じやすい理由として、血管量の低下、血管機能の低下、組織(皮膚・脂肪・筋肉)の量と機能が低下し、脆弱となること、骨突出が生じること、知覚低下などが挙げられる。さらに、老化に伴う創傷治癒力、免疫力低下は、高齢者の皮膚潰瘍が治りにくい原因と考えられる。既に人口の4分の1が65歳以上という超高齢者社会を迎えている我が国においては、人口の高齢化に伴っ

て、皮膚の虚血障害によって生じる病変(褥瘡や末梢循環障害など)を有する患者数も増大し、予防・治療・管理の重要性はこれまで以上に高まると考えられる。老化による皮膚の虚血、酸化ストレス障害に注目し、その後の皮膚障害・皮膚潰瘍の発生を少しでも予防、抑制できるような薬剤を開発することができれば、医療費や人件費、労働量の削減につながるのではないかと考え今回の研究を着想した。今回の研究成果から、MSCの皮下注入が、皮膚虚血再還流障害によって生じる血管障害を抑制し、酸化ストレスや小胞体ストレスを軽減させて、皮膚潰瘍の出現を有意に減少させることを見出した。MSCが急性期褥瘡の新たな治療法に応用できる可能性が示唆された。さらに今回の研究成果は、紫外線などで誘導される皮膚酸化ストレス障害によって促進される皮膚老化を予防できるような革新的な薬品、化粧品の開発に貢献できることが予想される。

(引用文献)

- 1) Motegi S, et al. Journal of Dermatological Science 2017; 86: 83-89.
- 2) Uchiyama A, Yamada K, et al. Journal of Investigative Dermatology 2015; 135: 1157-65.
- 3) Uchiyama A, Yamada K, et al. Scientific Reports 2015; 5: 9072.
- 4) Uchiyama A, Yamada K, et al. Experimental Dermatology 2016; 25: 678-683.
- 5) Uchiyama A, Motegi S, Sekiguchi A, et al. J Dermatol Sci. 2017; 86: 187-197.
- 6) Motegi S, Sekiguchi A et al. Scientific Reports 2017; 7: 17186.