

## 脂肪由来幹細胞分泌蛋白を利用した毛髪再生治療

福岡大太郎 巢瀬忠之 大久保文雄

---

## 脂肪由来幹細胞分泌蛋白を利用した毛髪再生治療

福岡大太郎\*1, \*2 巢瀬忠之\*1, \*3 大久保文雄\*3

◆ Key words : 育毛 発毛 脂肪由来幹細胞 成長因子 毛髪再生

## はじめに

成人の脂肪幹細胞 (adipose-derived stem cells : ADSCs) から抽出した脂肪由来幹細胞分泌蛋白 (adipose-derived stem cells conditioned medium : ADSCs-CM) には各種の成長因子が豊富に含まれており<sup>1)~3)</sup>, 毛母細胞が刺激されて増毛効果が期待できる。

ADSCs は, 脂肪吸引により採取された脂肪組織を精製することで得ることが可能である。これには, 自家脂肪を用いる方法と同種脂肪を用いる方法がある。自家脂肪を用いる場合には精製した自家脂肪幹細胞をそのまま移植することが可能であるが, 外科手術を伴うことや cell processing center (CPC) を必要とするなど莫大なコストと時間を要することなどから, 毛髪再生治療として行うには現時点では障壁が高い。同種脂肪を用いる方法では拒絶反応, 保存活性を考慮すると, ADSCs を移植するよりも培養した ADSCs から抽出した各種成長因子を含む ADSCs-CM を精製, 製剤化することで, 大量生産, 長期保存, 低コストでの治療が可能になる。

本稿では, FDA (米国医薬食品局) と KFDA (韓国医薬食品局) のガイドラインに則り,

韓国で製造された ADSCs-CM [Advanced Adipose-derived stem cell Protein Extract (AAPE®), Prostemics 社製, 韓国] を個人輸入し, 育毛注射薬 (mesoHAIR, Finnigan Pharma 社製, 米国) と組み合わせた HARG® カクテルを作製し, 毛髪再生に用いる著者らの方法を紹介する。

## I 薬剤の作製

## 1. AAPE® の作製

血液検査によりウイルスチェック (HIV, HBV, HCV) を行った健康な成人女性ドナー (5 人, 20~21 歳) から腹部脂肪吸引によって脂肪組織を採取し, 以下の方法で AAPE® が製造されている。

1) ADSCs の分離  
300 g (g : gravitation acceleration), 10 分間の遠沈の後, 0.075 % type I コラゲナーゼ (Sigma-Aldrich 社製, 米国) を添加し, 37°C で 45 分処理する。リン酸緩衝液 (phosphate buffered saline : PBS) を加え, 70 μm のフィルターを通して濾過する。その後, α-modified eagle medium (Invitrogen 社製, 米国) を少量添加して 300 g, 10 分間の遠沈の後, PBS を加え 70 μm のフィルターを通して濾過する。Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich 社製) を用いて 840 g, 10 分間の遠沈を行い,

\*1 YMC 横浜みなとクリニック

\*2 杏林大学医学部形成外科

\*3 昭和大学医学部形成外科学教室

上澄みを廃棄し Histopaque-1077 に浮かぶ細胞を集め ADSCs を得る。FDA, KFDA のガイドラインに則り、脂肪組織と洗浄した細胞のウイルス検査、細菌培養検査を行い雑菌の感染を排除する。Dulbecco's modified eagle media (DMEM), ニュージーランド種 10% ウシ血清培地 (FBS), 100 単位/ml ペニシリン, 100 単位/ml ストレプトマイシンを含む培地を用い 37°C の 5% 二酸化炭素の環境下で 3~5 日培養する。この工程をさらに 4 工程行い、100 mm<sup>2</sup> あたり 4×10<sup>5</sup> 個の ADSCs を得ることができる。

2) ADSCs-CM の作製  
ADSCs を PBS で洗浄し、無血清培地 (Prostemics 社製, patent pending) を加える。ADSCs から成長因子の分泌を促すため 72 時間低酸素環境 (2% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 93% N<sub>2</sub>) に保つ。低酸素環境下では成長因子が増加することが知られている<sup>1)2)</sup>。その後、300 g, 5 分間の遠沈の後、0.22 μm のシリンジフィルターを用いて濾過し、ADSCs-CM を抽出する。この時点で再度、ウイルス検査、細菌培養検査を行い雑菌の感染を排除する<sup>2)3)</sup>。最後に 3-kDa molecular-weight cut-off centricon tubes (Millipore 社製, 米国) を用いて分泌された蛋白を精製する。以上の工程で大量生産、製品化され、最終段階で再度細菌、ウイルスチェックを行った製剤が脂肪由来幹細胞分泌蛋白製剤 (AAPE<sup>®</sup>) である。AAPE<sup>®</sup> は粉末の製剤で、使用直前に付属の溶液に溶解して使用する。

最終的な細菌・ウイルス検査については、以下のスクリーニングを行っている。*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides vulgates*, *Candida albicans*, *Clostridium sporogenes*, *M. arthritidis*, *M. orale*, *M. pulmonis*, *M. hyorhinis*, *M. salivarium*, *M. fer-*

表 1 ADSCs-CM に含まれる主な細胞増殖因子の種類とそれらの含有量

蛋白	濃度
PDGF	44.41±2.56 pg/ml
bFGF	131.35±30.31 pg/ml
KGF	86.28±20.33 pg/ml
TGF-β1	103.33±1.70 pg/ml
HGF	670.94±86.92 pg/ml
VEGF	809.53±95.98 pg/ml
Type 1 collagen	921.47±49.65 pg/ml
Fibronectin	1,466.48±460.21 pg/ml

(Park BS, et al : Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging. *Dermatol Surg* 34 : 1323-1326, 2008 より引用)

*mentans*, *M. pneumoniae*, *M. bovis*, *A. laidlawii*, C 型肝炎ウイルス, B 型肝炎ウイルス, HIV ウイルス。

## 2. mesoHAIR と育毛メソカクテル

育毛注射薬 (mesoHAIR) はビタミン B 群, プフロメジル, シスチンを主成分とする育毛剤で、毛髪成長を助け育毛効果が期待できる。われわれは mesoHAIR にさらにビタミン H (1 mg), ビタミン B1 (5 mg), ビタミン B2 (1 mg), ビタミン B6 (2.5~5 mg), ビタミン C (80~100 mg), ビタミン E (5 mg), コエンザイム Q10 (10 U) を加えたものを、育毛メソカクテルと称して使用している。

## 3. HARG<sup>®</sup> カクテル

われわれは ADSCs-CM を精製、製剤化した AAPE<sup>®</sup> と前述の育毛メソカクテルを混合したものを Hair Re-Generative Therapy の頭文字をとって HARG<sup>®</sup> カクテルと称し、脱毛症に対する毛髪再生治療のプロトコルに基づき、安全で効果的な毛髪再生治療を行っている。これにより、同種脂肪由来幹細胞による毛髪再生治療が容易となった (表 1)。

## II 治療方法

われわれは薄毛, 禿髪, 脱毛症の保存的治

療を毛髪再生治療としてとらえ、Step 1：進行予防<sup>4)~6)</sup>、Step 2：育毛治療<sup>7)~9)</sup>、Step 3：増毛治療の3段階のステップで患者の予算とニーズに合わせた治療を行っている。

本稿では、HARG®カクテルを用いた増毛メソセラピーを紹介する。まず、AAPE® 3~5 mlと前述の育毛メソカクテル 3~5 mlを混合し、HARG®カクテルを作製する。作製したHARG®カクテルをナパージュ法（ピンプリック）、パピューラ法（皮内注射）<sup>9)</sup>で直接頭皮に浸透させる。患者の同意が得られる場合には、パピューラ法では眼窩上神経ブロック、後頭神経ブロックなどを行い、ナパージュ法（ピンプリック）の場合にはリドカイン・テトラカイン含有の表面麻酔薬を塗布したり、無麻酔で施術している。3週間おきに3~6回繰り返し、その後は症状に応じて約1~2カ月に1回ずつ繰り返す。

### III 対象と結果

アンケート使用の承諾の取れた薄毛、脱毛症の計24人（男性12人、女性12人、年齢27~69歳）に対して、HARG®療法（増毛メソセラピー）を4回施行し、患者の満足度を次の治療時に5段階のvisual analogue scale (VAS) スコアで評価した（表2）。また、医師評価を4回目治療後に5段階のVASスコアで行った。フリードマン検定、ウィルコクソン検定、ロジスティック回帰分析を行い統計学的有意差の有無を検証した。

AAPE®を用いることで毛包成長期の毛髪成長の促進、毛包休止期の毛母細胞の活性化、毛球の成熟、毛包の成長による毛髪再生を誘導することができた。患者満足度VASスコアは、男女とも全例において治療回数に伴い増加傾向を認めた。

休止期毛根からの発毛により、特に男性型脱毛においては前額部の毛髪再生が著明で、有毛部境界の前進を7例において認めた（図

表2 対象患者の男女別、年齢別の内訳

性別	男性	12	(50)
	女性	12	(50)
年齢	20~29歳	2	(8.3)
	30~39	6	(25)
	40~49	10	(41.7)
	50~59	3	(12.5)
	60~69	3	(12.5)
	男性の年齢分布	20~29歳	2
	30~39	3	(12.5)
	40~49	7	(29.2)
	50~59	0	(0)
	60~69	0	(0)
女性の年齢分布	20~29歳	0	(0)
	30~39	3	(12.5)
	40~49	3	(12.5)
	50~59	3	(12.5)
	60~69	3	(12.5)

( ) 内：%

1)。また、短髪が多い男性においては、頭頂部の髪質改善による頭皮の透見改善を8例において認めた（図2, 3）。長髪が多い女性ではメソカクテル同様、髪質の改善により頭皮の透見が著明に改善した（図4）。本治療後の患者満足度VASスコアの平均値は1回目2.45, 2回目2.92, 3回目3.38, 4回目3.75と、治療回数に伴って増加を認めた。男性の平均値1回目2.33, 2回目2.83, 3回目3.33, 4回目3.83, 女性の平均値1回目2.58, 2回目3.00, 3回目3.42, 4回目3.67と、男女ともに治療回数に応じてスコアの増加を認めた（図5）。4回目治療後における医師総合評価VASスコアは全症例において3以上であり（表3）、その平均値は4.25であった。男女別の医師総合評価VASスコアの平均値は男性4.17, 女性4.25と、男女ともに高い治療効果を認めた（図6）。

患者満足度と治療回数の関係について統計学的分析を行ったところ、フリードマン検定で有意差あり（ $P<0.01$ ）という結果が得られた。またウィルコクソン検定で、1回目の治療後から有意差を認めた（ $P<0.01$ ）。男

12	(20)
12	(20)
2	(8.3)
6	(25)
10	(17.3)
3	(12.5)
3	(12.5)
3	(8.3)
3	(12.5)
7	(20.2)
0	(0)
0	(0)
0	(0)
3	(12.5)
3	(12.5)
3	(12.5)
3	(12.5)



(a) 毛髪再生治療前の状態 (b) 治療後1年の状態

図1 症例1：39歳，男性  
HARG®療法8回施行により，前頭部の毛髪再生を認め，生え際の前進が得られた。



(a) HARG®カクテル3回注射後の状態 (b) HARG®カクテル7回注射後の状態

図2 症例2：39歳，男性  
頭頂部全体の髪質の改善と増毛を認め，頭皮の透見が改善された。

性別の検定においても，フリードマン検定 ( $P < 0.01$ )，ウイルコクソン検定 ( $P < 0.01$ ) ともに有意差を認めた。さらに，ロジスティック回帰分析で性別，年齢とVASスコアとの関連を検定したが，いずれの治療回数においても有意差を認めなかった。医師総合評価と患者満足度の比較ではT検定で有意差を認めた ( $P < 0.01$ )。

#### IV 考察

毛髪の成長において，毛根血流の増加および毛母細胞への栄養分の取り込みが毛質の改善に関連していると考えられる。mesoHAIRは，ビタミンB，プフロメジル，シスチンを含有する育毛注射剤である。ビタミンBは



(a) 毛髪再生治療前の状態

(b) 育毛メソセラピー5回施行後の状態

頭頂部全体の髪質の改善と増毛を認め、頭皮の透見が改善された。

(c) 約6カ月治療を中止した状態  
AGAの進行を認め、HARG®治療を再開した。

(d) HARG®治療5回施行後の状態  
髪質の改善と増毛を認め、頭皮の透見が改善された。

図3 症例3：37歳，男性

メラニンの生合成に関与し、プフロメジルは cyclic AMP および生物学的血管拡張物質を刺激するホスホジラーゼ酵素阻害で、末梢血管拡張を引き起こし、血管平滑筋のカルシウムチャネルを阻害するが、アドレナリン作用を阻害しないため基礎血行動態の変動は来たさず血液灌流の改善が期待できる<sup>10)</sup>。シスチ

ンは毛髪蛋白のケラチンを構成するアミノ酸であり、これらを含む mesoHAIR は育毛治療に有用な製剤である。われわれはさらに育毛効果を高めるためにシスチンからケラチンの構成に有用なビタミンHを加え、さらに、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB6、ビタミンC、ビタミンE、コエンザイ



(a) 毛髪再生治療前の状態 (b) 治療後 1.5 カ月の状態 (4 回注射施行)

図 4 症例 4：50 歳，女性。  
頭頂部全体の髪質の改善と増毛を認め，頭皮の透見が改善された。

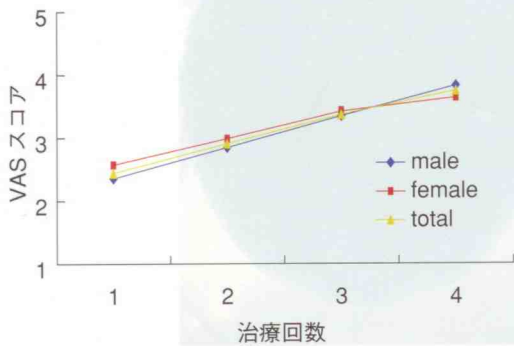


図 5 治療回数と患者満足度 VAS スコアの相関関係

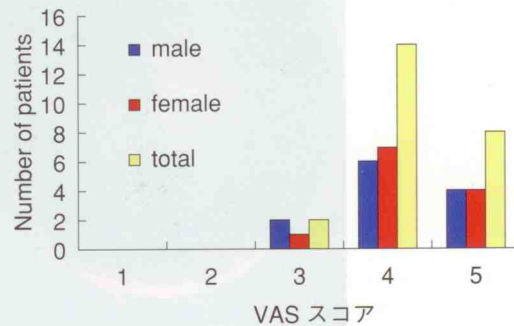


図 6 治療回数と医師評価 VAS スコアの相関関係

表 3 VAS スコアの内訳

治療回数	1 回目			2 回目			3 回目			4 回目		
	All	M	F	All	M	F	All	M	F	All	M	F
VAS スコア	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	2	5	8	4	4	4	3	1	0	0	0
	14	7	7	10	6	4	9	4	5	11	5	6
	0	0	0	6	2	4	9	3	6	8	4	4
	0	0	0	0	0	0	2	2	0	5	3	2

ム Q10 を混合して育毛メソカクテルと称して使用している。基本的には生理的な育毛成分の投与であるが<sup>7)~9)</sup>，ミノキシジルなどの血管拡張剤の単独投与に比べより多くの有効成分を含むため，貧血や低血圧，ダイエット

などによる栄養障害が原因として多い女性型の脱毛症に対しては育毛効果を期待できる。育毛メソセラピーでは既存の毛髪の育毛効果が主であり，後退した生え際の前進や頭頂部の増毛を望む症例では，AAPE<sup>®</sup>を加え

たHARG<sup>®</sup>療法(増毛治療)が適している。ADSCs-CMやこれを精製し製剤化したAAPE<sup>®</sup>には、毛包成長期の誘発、細胞保護効果をもたらすFGF-7として知られるKGF (keratinocyte growth factor)、毛包の成長期移行シグナルとして毛包成長に必要なIGF-1 (insulin-like growth factor-binding protein)、血管新生を促進させるVEGF (vascular endothelial growth factor)、相互促進により生体内毛包成長作用を調節するHGF (hepatocyte growth factor)、毛包成長期の保持にかかわるPDGF (platelet derived growth factor)、毛包形態形成、毛成長期移行にかかわるWnt (wint inducible factor)、また、毛包形態形成をブロックするFGF-2、毛包成長期の終了にかかわるFGF-5など150種類を超えるサイトカインが含まれている<sup>1)11)~23)</sup>。AAPE<sup>®</sup>を頭皮に投与することでこれらの成長因子が相互に作用し、①成長期段階にある毛髪を誘発させ、②増殖毛乳頭細胞とケラチノサイトが増加し、③毛包成長が促進すると考えられている。

マウスを用いた基礎実験によって、ADSCs-CMが休止期の毛根を増殖期に転向させることが検証された<sup>2)24)</sup>。多種類の成長因子を投与することには賛否両論あるが、ADSCs由来の成長因子群は高濃度であるものの、その含有比率は生理的であり(表1)、それぞれの成長因子が相互に干渉しあうために有効で安全であると考えられる。生理的含有比の成長因子群であれば増殖と退行、免疫誘導のバランスが保たれると考えている。

著者の前額部でHARG<sup>®</sup>療法のハーフサイドテストを行ったところ、治療部位の生え際の前進が認められた(図7)。また、育毛メソカクテル注射とHARG<sup>®</sup>カクテル注射のハーフサイドテストを行ったところ、4回施行後の所見で明らかにHARG<sup>®</sup>カクテル注射の部位の毛髪が増加していた。HARG<sup>®</sup>カクテル注射の方が育毛メソカクテル注射よりも

増毛効果が強いと考えられる。育毛メソセラピーで育毛効果が出現した後に約6カ月治療を中止したためAGAが進行し、再度HARG<sup>®</sup>療法を行うことで増毛効果を得た症例も経験した(図3)。

男性型脱毛症に対してHARG<sup>®</sup>カクテルを投与すると、頭髪の短い男性の場合、開始数カ月ほどで休止期毛包からの発毛による増毛効果が見られ、毛量増加、毛髪境界の拡大をもたらす。今回の結果から、1回目の治療3週後の評価においても効果を認めることがわかり、早い段階において発毛の実感を得られた。また、年齢による効果発現の差は認められず、性別、年齢を問わず行える治療だといえる。

女性型脱毛症にHARG<sup>®</sup>カクテルを投与した場合、休止期毛包からの発毛による増毛開花には毛髪伸長速度から考えると数カ月を要する。これに対して成長期段階の毛髪は、早期より治療に反応し効果が見えやすい。患者満足度の統計学的解析により、治療効果に男女差はなく、女性患者(n=12)においても十分な効果を得られることがわかる。

患者満足度より医師評価の方が高いという結果については、医師の評価が発毛を基準として行われるのに対して、患者の満足度は、発毛だけではなく自覚症状、施術に伴う疼痛や費用なども関係しているためと思われる。

これまでの自己多血小板血漿(plate rich plasma:PRP)、ヒトプラセンタ(ラエンネック<sup>®</sup>)などの他の成長因子療法を用いた方法と比べた場合、AAPE<sup>®</sup>にはFGF-7(KGF)が豊富に含まれており、KGFが毛髪再生に深く関与していることがうかがえる<sup>21)22)</sup>。

HARG<sup>®</sup>療法の禁忌については一般的なメソセラピーと同様に局所の皮膚疾患、炎症、感染などがある場合、アレルギー性疾患、自己免疫疾患、妊婦、癌患者、抗凝固療法中などである。合併症として最も多いのは疼痛で、注入時および注入後の疼痛がある。眼窩上神





HARG ← | → 非治療

図7 著者前額部：ハーフサイドテスト（右側：HARG®注射，左側：非治療）2回施行後の状態。HARG®注射部の生え際の前進が顕著である。

症ブロック，後頭神経ブロック，表面麻酔薬の塗布，施術後の冷却やNSAIDの投与で予防，対処が可能である。

ADSCsを用いた治療は自家移植として泌尿器科領域ではすでに臨床的に用いられている<sup>25)</sup>。ADSCs-CMの安全性に対しては，前述のとおり精製の過程で数段階ものウイルス・細菌検査が施行されている。精製の過程でFBSが使用されることに対してはニュージーランド種のウシを使用する培地に対するγ線照射を行うなど，BSEのリスクに対しても可能な限りの予防策を講じている。

### まとめ

ADSCs-CM，およびこれを精製し製剤化したAAPE®は休止期の毛根を増殖期に転向させ，増毛治療に有効である。さらに各種ビタミン，アミノ酸などの育毛成分を混合させたHARG®カクテル療法は，年齢，性別を問わず，低侵襲で容易に育毛増毛効果が得られ，従来は植毛やカツラの適応だった高度脱毛症・禿髪の患者に新しい希望を提供できると考える。

### 引用文献

- 1) Lee EY, Xia Y, Kim WS, et al : Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen* 17 : 540-547, 2009
- 2) Park SH, Kim WS, Choi JS, et al : Hair growth stimulate by conditioned medium of adipose-derived stem cells is enhanced by hypoxia ; Evidence of increased growth factor secretion. *Biomedical Research* 31 : 27-34, 2010
- 3) Park BS, Jang KA, Sung JH, et al : Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging. *Dermatol Surg* 34 : 1323-1326, 2008
- 4) Kaufman KD, Binkowitz B, Wolff H, et al : Long-term (5-year) multinational experience with finasteride 1 mg in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Eur J Dermatol* 12 : 38-49, 2002
- 5) Drake LA, Dinehart SM, Farmer ER, et al : Guidelines of care for androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 35 : 465-469, 1996
- 6) Lucky AW, Piacquadio DJ, Ditre CM, et al : A randomized, placebo-controlled trial of 5 % and 2 % topical minoxidil solutions in the treatment of female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol* 50 : 541-553, 2004
- 7) Bruna DE, Colombia V, Cosimo M, et al : Alopecia secondary to mesotherapy. *J Am Acad Dermatol* 61 : 707-709, 2009

- 8) Boshara SA, Amir EI, Saad AD : Cosmetic mesotherapy ; Between scientific evidence, science fiction, and lucrative business. *Aesthetic Plast Surg* 32 : 842–849, 2008
- 9) Maya V : Mesotherapy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 73 : 60–62, 2007
- 10) Capecchi PL, Laghi PF, Sodi N : Increase in plasma levels of adenosine and adenine nucleotides after intravenous infusion of buflomedil in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 25 : 35–39, 1995
- 11) Stenn KS, Paus R : Controls of hair follicle cycling. *Physiol Rev* 81 : 449–494, 2001
- 12) Tomita Y, Akiyama M, Shimizu H : PDGF isoforms induce and maintain anagen phase of murine hair follicles. *J Dermatol Sci* 43 : 105–115, 2006
- 13) Yano K, Brown LF, Detmar M : Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest* 107 : 409–417, 2001
- 14) Jindo T, Tsuboi R, Takamori K, et al : Local injection of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) alters cyclic growth of murine hair follicles. *J Invest Dermatol* 110 : 338–342, 1998
- 15) Lindner G, Menrad A, Gherardi E, et al : Involvement of hepatocyte growth factor/scatter factor and met receptor signaling in hair follicle morphogenesis and cycling. *FASEB J* 14 : 319–332, 2000
- 16) Su HY, Hickford JG, Bickerstaffe R, et al : Insulin-like growth factor 1 and hair growth. *Dermatol Online J* 5 : 1, 1999
- 17) Weger N, Schlake T : IGF-1 signalling controls the hair growth cycle and the differentiation of hair shafts. *J Invest Dermatol* 125 : 873–882, 2005
- 18) Batch JA, Mercuri FA, Werther GA : Identification and localization of insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) messenger RNAs in human hair follicle dermal papilla. *J Invest Dermatol* 106 : 471–475, 1996
- 19) Park JY, Park YH, Ahn DH, et al : Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) -mediated hair cell survival on the mouse utricle exposed to neomycin ; The roles of IGFBP-4 and IGFBP-5. *Acta Otolaryngol Suppl* 127 : 22–29, 2007
- 20) Wegener N, Schlake T : IGFBP-3 modulates cell proliferation in the hair follicle. *J Invest Dermatol* 125 : 847–849, 2005
- 21) Jang JH : Stimulation of human hair growth by recombinant human keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) . *Biotechnol Lett* 27 : 749–752, 2005
- 22) Guo L, Degenstein L, Fuchs E : Keratinocyte growth factor is required for hair development but not for wound healing. *Genes Dev* 10 : 165–175, 1996
- 23) Inomata K, Takahiro A, Nguyen TB, et al : Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation. *Cell* 137 : 1088–1099, 2009
- 24) Won CH, Yoo HG, Kwon OS, et al : Hair growth promoting effects of adipose tissue-derived stem cells. *J Dermatol Sci* 57 : 134–137, 2010
- 25) Yamamoto T, Gotoh M, Hattori R, et al : Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells for the treatment of stress urinary incontinence in patients undergoing radical prostatectomy ; Report of two initial cases. *Int J Urol* 17 : 75–82, 2010

## ABSTRACT

### Hair Regenerated Therapy with Growth Factors in Adipose-derived Stem Cells Secreted Protein

*Hirotaro Fukuoka, MD* \*1. \*2,

*Tadayuki Suse, MD* \*1. \*3 and *Fumio Ohkubo, MD* \*3

Patients dissatisfied with their hair growth have increased in recent years. As adipose-derived stem cells (ADSCs) secrete many cytokines and growth factors that influence hair loss and hair regrowth, we combined buflomedil, cysteine, coenzyme Q10, and vitamins B, H, C, and E with ADSC proteins to develop a novel therapy known as Hair Re-generative (HARG®) therapy for hair growth treatment. To obtain stem cell proteins, ADSCs were grown in complete media for 2 weeks under hypoxic culture conditions. Then, we applied the combination of those substances in mesotherapy (Nappage and Papule injections) using adipose tissue that was absent of bacterial or viral infections. Based on our visual analog

scale (VAS) for hair growth satisfaction, the effects of four sessions of HARG® therapy were evaluated by 24 patients (12 women and 12 men), who provided prior consent. The VAS scores significantly increased with increasing treatment frequency (Friedman's two-way analysis of variance and Wilcoxon's signed rank test :  $P < 0.01$ ), indicating an increase in satisfaction in hair growth after continued treatment. Thus, HARG® therapy appears to be a potential alternative for hair regeneration in patients who are unwilling or unsuitable to undergo traditional surgical hair transplantation. Moreover, no specialized facility

such as a cell processing center is required, and the treatment can be administered simply by a trained medical practitioner. By adhering to our protocol, reproducible and excellent hair regrowth results can be achieved.

\*1 YMC Yokohama Minato Clinic for Plastic and Cosmetic Surgery, Yokohama 220-0004

\*2 Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Kyorin University, Tokyo 181-8611

\*3 Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Showa University, Tokyo 142-8555

ABSTRACT

Hair Regenerated Therapy with Growth Factors in Adipose-derived Stem Cells Secreting Protein

Yamamoto Akinobu, MD\*\*

Tokuyoshi Sae, MD\*\* and Fumiyo Okada, MD\*\*

Patients dissatisfied with their hair growth have increased in recent years. As adipose-derived stem cells (ADSCs) secrete many cytokines and growth factors that influence hair loss and hair regrowth, we combined butamethide, cysteine, coenzyme Q10, and vitamins B, H, C, and E with ADSC proteins to develop a novel therapy known as Hair Regenerative (HARG®) therapy for hair growth treatment. To obtain stem cell proteins, ADSCs were grown in complete media for 3 weeks under hypoxic culture conditions. Then, we applied the combination of those substances in mesotherapy (Nagase and Tague injections) using adipose tissue that was spared of facial or vital injections. Based on our visual analog

121. Tomita Y, Akiyama M, Shimizu H: PDGF isoforms induce and maintain anagen phase of the hair follicles. *J Dermatol Sci* 43 : 105-115, 2008

122. Yano K, Brown LE, Detmar M: Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest* 107 : 409-417, 2001

123. Jindo T, Teshigahara R, Takamori K et al: Local injection of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) affects cyclic growth of murine hair follicles. *J Invest Dermatol* 110 : 338-342, 1998

124. Lindner G, Mehard A, Gherardi E, et al: Involvement of hepatocyte growth factor/scatter factor and net receptor signaling in hair follicle morphogenesis and cycling. *FASEB J* 14 : 319-323, 2000

125. Su HY, Hickford JC, Hickertalle R, et al: Insulin-like growth factor I and hair growth. *Dermatol Online J* 5 : 1, 1999

126. Weiger M, Schibke T: IGF-I signaling controls the hair growth cycle and the differentiation of hair shafts. *J Invest Dermatol* 125 : 873-882, 2005

127. Bach JA, Marcup FA, Werther CA: Identification and localization of insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) messenger RNAs in human hair follicle dermal papilla. *J Invest Dermatol* 108 : 471-475, 1996

128. Park JY, Park YH, Ahn DH, et al: Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-mediated hair cell survival on the mouse stroke exposed to neomycin: The roles of IGFBP-1 and IGFBP-5. *Acta Otolaryngol Suppl* 127 : 22-29, 2007