

北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターの紹介

北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センター教授

北里大学大学院医療系研究科再生組織工学教授

黒柳 能光

1. 人工皮膚研究開発センター設立の経緯

北里大学における人工皮膚の研究開発は、初代形成外科教授であった塩谷信幸先生の研究方針で1985年に工学系の研究者である黒柳が形成外科に入局したときから本格的にスタートした。同大形成外科では、「人工皮膚の研究開発には、材料設計など、医師だけでは解決できないこともあり、研究領域の異なる学際的な共同研究体制が必要である」という方針が導入された。人工皮膚には、創傷被覆材と培養皮膚代替物の2つがある。同大形成外科では、黒柳を中心として感染を抑えることを目的とした創傷被覆材の研究開発に着手した。その結果、抗菌剤のスルファジアジン銀を被覆材から徐放する新しい発想に基づき創傷被覆材を開発し、1991年に日本バイオマテリアル学会賞を受賞した。一方、培養皮膚代替物の研究も平行して展開し、1993年に、自家培養皮膚の臨床研究を報告した¹⁾。その後、同種培養真皮の研究開発を展開し²⁾、全国規模の臨床研究の展開を目指して2000年に同大医療衛生学部人工皮膚研究開発センターを設立した。平成10年度から厚生労働省の研究費を導入し、平成12年度から多施設臨床研究を展開している(表1)。

表1

北里大学医療衛生学部
人工皮膚研究開発センターにおける
プロジェクト研究

北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センター
平成10年度～11年度：厚生科学高度先進医療研究事業 難治性創傷被覆材の開発と普及による難治性皮膚疾患の診療技術の確立
第1期ミレニアムプロジェクト 平成12年度～14年度：厚生労働科学再生医療研究事業 細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
第2期ミレニアムプロジェクト 平成15年度～18年度：厚生労働科学再生医療研究事業 細胞組織工学を応用した培養皮膚の実用化に向けた研究

2 医療に役立つ人工皮膚の設計

皮膚分野における再生医療は、自家分層植皮という最強の競争相手がいるため、目的を明確にした人工皮膚の材料設計を行わなければ研究開発の意義が薄れ、真の医療に結びつかない。皮膚再生能力を最大限に発揮できる環境を作ることが皮膚の再生医療である。人工皮膚は、「創傷被覆材」と「培養皮膚代替物」に大別される³⁾。前者は、創傷面を被覆して皮膚再生能力を発揮できる環境をつくる目的で使用される。後者は、細胞を利用して皮膚再生能力を最大限に発揮できる環境をつくる目的で使用される。厳密には、



NEWS
LETTER

日本創傷治癒学会

2004.8
No.22

● 日本創傷治癒学会事務局

〒160-8582

東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部外科学教室内

tel. 03-3353-1211

(内線62269)

fax.03-3353-2681

e-mail: info@jswh.com

URL: http://www.jswh.com

患者自身の角化細胞や線維芽細胞を利用して永久生着を目的として使用する“自家培養皮膚代替物”と 他人由来の角化細胞や線維芽細胞を利用して、細胞から産生される生理活性物質により創傷治癒を促進する目的で使用する“同種培養皮膚代替物”に分類する。

3 再生医療の推進に必要なガイドライン

米国では、ヒトの組織や細胞由来の医療製品に関するガイドラインが食品医薬品局(FDA)により提案され、既に幾つかの培養皮膚代替物が製品化されている。日本では、これまでヒト組織細胞の取り扱いに関する基本法律が整備されていなかったためヒト組織細胞の医療への利用を展開する場合の最大のネックとなっていた。しかし、平成12年12月26日に日本でも再生医療に関するガイドラインが作成された(ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針)。そして、平成13年3月28日に厚生労働省から最終的なガイドラインが発表された(細胞組織医薬品及び細胞組織医療用具に関する取扱いについて)。再生組織工学の技術を駆使して新しい医療を慎重に、そして遅延なく進展させるためのガイドラインが国内において整備されたことは、再生医療の普及において極めて重要な意義をもつ。

4 厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト: 同種培養真皮の多施設臨床研究

北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターで製造した同種培養真皮を使用して全国26の医療施設において多施設臨床研究が推進されて

いる(図1)。同種培養真皮の性能は、マトリックスを構成する材料自身による創傷治癒促進効果と線維芽細胞から産生される種々の生理活性物質による創傷治癒促進効果との相乗作用に依存する。そこで、ヒアルロン酸とアテロコラーゲンの2層構造のスポンジをマトリックスとした新規の同種培養真皮を開発した(図2)4,5)。ヒアルロン酸は細胞の移動を促進し、コラーゲンおよびその分解生成物であるペプチドは線維芽細胞に対して走化性因子として作用する。線維芽細胞は、創傷治癒に重要な作用をもつVEGF、bFGF、KGF、PDGF、HGF、IL-6、IL-8、TGF- β を産生する。この他に、創傷治癒に重要な作用をもつフィブロネクチンも産生する。

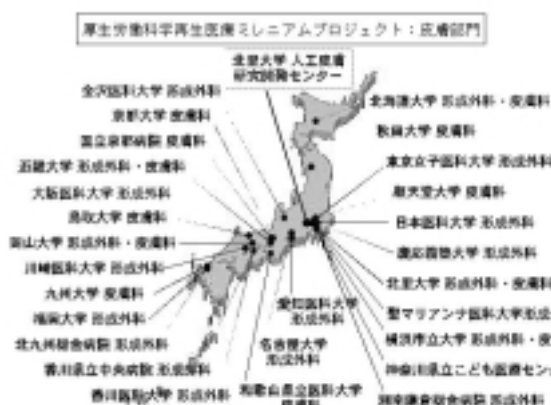


図1
厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト: 同種培養真皮の多施設臨床研究ネットワーク

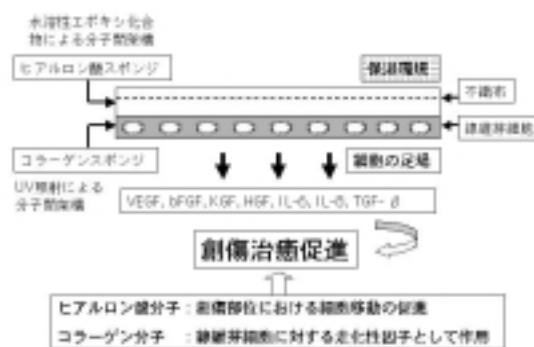
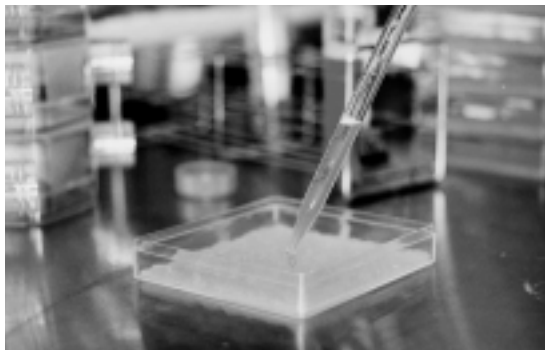


図2
ヒアルロン酸とコラーゲンの2層構造のスポンジに線維芽細胞を播種して作成する同種培養真皮の構造と機能

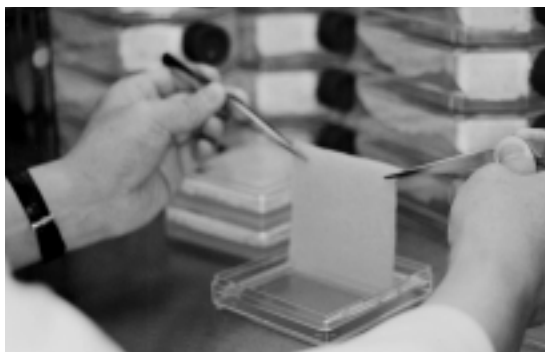
当センターでは、10cm×10cmサイズの同種培養真皮を年間2000枚製造することができる。ウイルス（HIV、HBV、HCV、HTLV）に感染していないことを確認した患者から提供された皮膚小片を入手し、抗生物質／抗真菌剤で処理した後、コラゲナーゼ処理により線維芽細胞を採取し、これを継代培養してマスターセルとワーキングセルとして凍結保存する。安全性を確保するため、マスターセルの一部を使用して、再度、ウイルス（HIV、HBV、HCV、HTLV、Parvovirus）に感染していないことを確認する安全策をとっている。同種培養真皮のマトリックスは、ヒアルロン酸とアテロコラーゲンを原料として凍結真空乾燥法により作製する。ワーキングセルを解凍して継代培養した線維芽細胞をマトリックスに播種して培養する方法で同種培養真皮を製造する（図3）。

図3

同種培養真皮の製造:マトリックス上に線維芽細胞の浮遊液を滴下〔1〕、翌日培養液を加えて1週間培養〔2〕



〔1〕



〔2〕

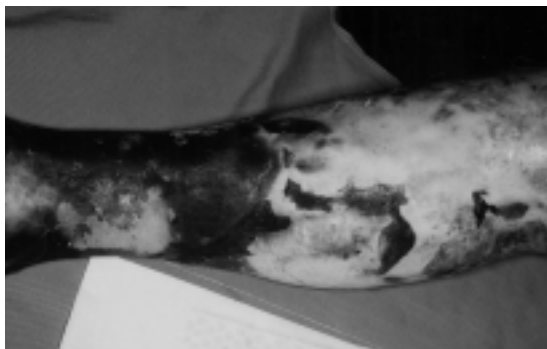
同種培養真皮の凍結保存は、培養液を凍結保存液に交換した後、毎分-1℃の速度で4℃から-60℃まで冷却して凍結させ、さらに-152℃の超低温フリーザー内で保存する。同種培養真皮の他施設への供給は、ドライアイスを入れた発泡スチロールの箱に納めて冷凍便で搬送する方法をとっている。同種培養真皮を他施設に搬送する前に、マイコプラズマ検査および生菌数検査を行い陰性であることを確認するシステムを確立している。同種培養真皮を受け取った施設は、-85℃あるいは-152℃のフリーザー内で保存している。臨床使用する際には、37℃で急速解凍した後、乳酸リンゲル液でリンスして凍結保存液を除去してから使用する。

第1期厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクトとして、平成12～14年度に全国の医療施設において同種培養真皮を用いて263症例の臨床研究を展開した。症例の内訳は、深達性Ⅱ度熱傷:37症例、Ⅲ度熱傷壊死組織切除創:17症例、高倍率自家メッシュグラフトの保護:30症例、分層自家パッチグラフトの保護:6症例、難治性皮膚潰瘍:108症例、外傷性皮膚欠損創:13症例、色素性母斑切除創:10症例、熱傷等瘢痕切除創:6症例、悪性腫瘍切除創:25症例、プロトコル外の参考症例:11症例であった。有効性の評価と安全性の評価を総合して4段階の判定を行った。極めて有用:162症例、有用である76症例、普通:13症例、有用でない:1症例であった。新しい治療法となる代表症例を図4と図5に示す。

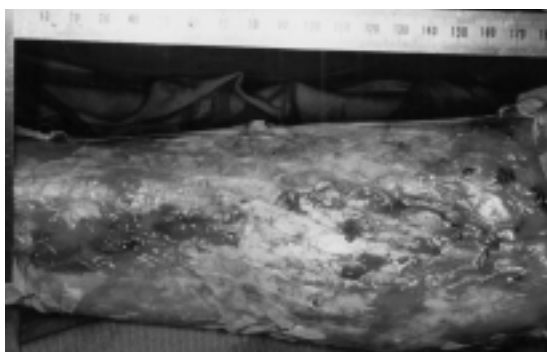
再生医療の実用化を目指して、平成15年度～16年度にかけて、第2期プロジェクトが当該研究班により推進され、第1期プロジェクトと合すると350症例に及ぶ臨床研究報告が蓄積されている。

図4

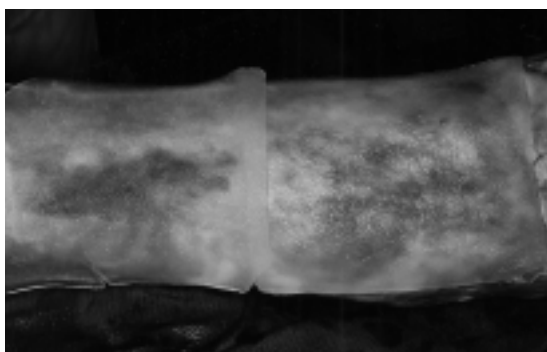
同種培養真皮の臨床応用:81歳女性、度熱傷創を切除した創面[1]に6倍に拡大したメッシュ状の自家分層皮膚を移植[2]。その上に同種培養真皮を適用[3]、3~6日毎に同種培養真皮を適用して18日後にメッシュ間の表皮化を観察[4]（香川県立中央病院形成外科）



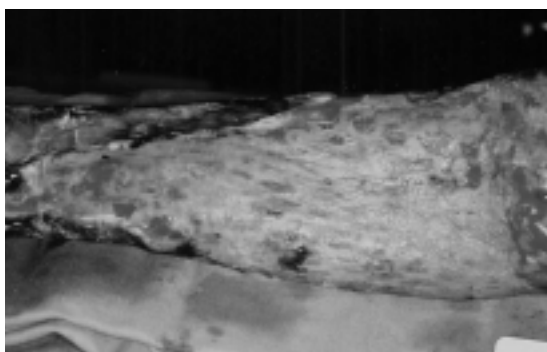
[1]



[2]



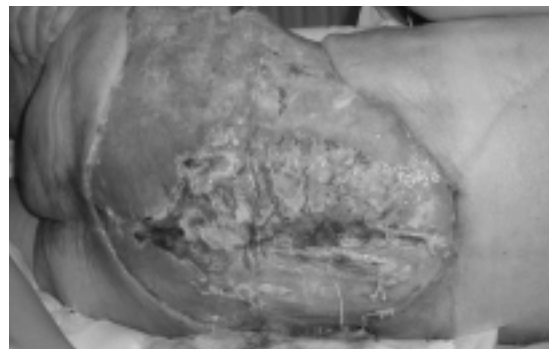
[3]



[4]

図5

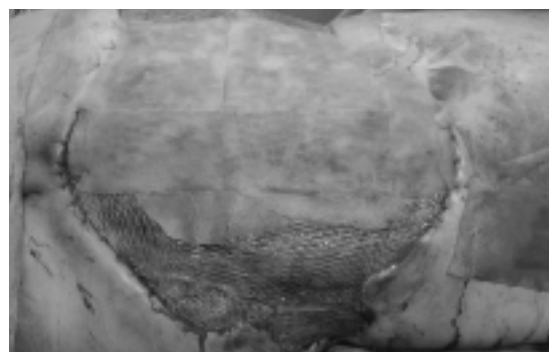
同種培養真皮の臨床応用:88歳女性、壊死性筋膜炎[1]の壊死組織を切除した創面に6倍に拡大したメッシュ状の自家分層皮膚を移植[2]、その上に同種培養真皮を適用[3]。6~7日毎に同種培養真皮を適用して28日後にメッシュ間の表皮化を観察[4]（香川県立中央病院形成外科）



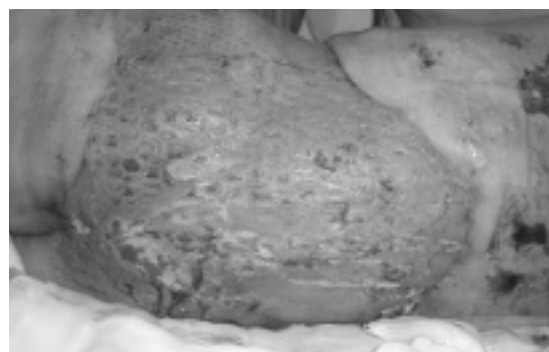
[1]



[2]



[3]



[4]

学会ホームページではカラーでご覧頂けます。

5 自家培養真皮の臨床研究

自家培養真皮の臨床研究は、小児の熱傷瘢痕治療および小児の巨大色素性母斑治療を対象として、北大皮膚科、慶応義塾大形成外科、大阪医大形成外科において推進している。患者自身の皮膚小片を採取して、線維芽細胞を単離培養して患者自身のマスターセルを凍結保存する。手術日の3週間前に線維芽細胞を解凍・培養し、ヒアルロン酸とアテロコアーゲンの2層構造のスポンジ状マトリックスに播種して自家培養真皮を作製し、フレッシュな状態で臨床応用する。瘢痕および母斑切除創に適用して良好な移植床を形成し、そこに極薄い自家分層植皮を施行する。これにより、瘢痕を最小限に抑えることが可能となる。患者自身の線維芽細胞を凍結保存することにより小児が成人するまで、繰り返しの手術に対応することができる。

文献

- 1 Y. Kuroyanagi et al : A cultured skin substitute composed of fibroblasts and keratinocytes with a collagen matrix; preliminary results of clinical trials. Ann. Plast. Surg., 31:340-349, 1993.
- 2 Y. Kuroyanagi et al: Tissue-engineered product; allogeneic cultured dermal substitute composed of spongy collagen with fibroblasts. Artif. Organs, 25(3): 180-186, 2001.
- 3 黒柳能光:(総説)再生組織工学による皮膚の再建; 培養皮膚代替物の開発現状. 生体材料, 19: 166-176, 2001.
- 4 黒柳能光 他:同種培養真皮の製造と供給システム(厚生科学再生医療ミレニアムプロジェクト). 熱傷, 29: 28-38, 2003.
- 5 Y. Kuroyanagi et al: Establishment of banking system for allogeneic cultured dermal substitute. Artif. Organs, 26(1): 13-21, 2004.

WRRに会員の論文が掲載されました

会員の論文がWound Repair and RegenerationのVolume12 No.2に掲載されました。論文名、著者は下記の通りです。

日本創傷治癒学会学術集会で発表された研究の論文につきましては、事務局に原稿をお送りいただければ、費用を事務局で負担して英文校正をいたします。あくまでWRR Editorによるpeer reviewの形をとりますが、最終稿には推薦状を添え、JSWH事務局から発送いたします。

投稿規程に関しましては、巻頭に掲載されておりますInformation for authorsをご参照下さい。会員の皆様の論文投稿をお待ちしております。

秋田 定伯 先生 (長崎大学形成外科)他

CRANIAL BONE DEFECT HEALING IS ACCELERATED BY MESENCHYMAL STEM CELLS
INDUCED BY COADMINISTRATION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-2 AND BASIC
FIBROBLAST GROWTH FACTOR

P. 252 ~ 259