

厚生労働科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

組織工学を応用した培養皮膚の実用化に向けた研究

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 黒柳 能光

平成16年4月

平成15年度厚生労働科学研究補助金
再生医療ミレニアムプロジェクト研究組織

主任研究者：北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センター

黒柳能光、久保健太郎

分担研究者：

北海道大学形成外科	杉原平樹、井川浩晴
秋田大学皮膚科	真鍋 求、播摩奈津子
慶応義塾大学形成外科	中島龍夫、貴志和生
順天堂大学皮膚科	小川秀興、長谷川敏男
聖マリアンナ医科大学形成外科	熊谷憲夫、井上 肇
横浜市立大学形成外科	鳥飼勝行、前川二郎
愛知医科大学形成外科	青山 久、横尾和久
京都大学皮膚科	宮地良樹、立花隆夫
川崎医科大学形成外科	森口隆彦、岡 博昭
九州大学皮膚科	古江増隆、師井洋一

共同研究者：

北海道大学皮膚科	清水 宏、青柳 哲
東京女子医科大学形成外科	野崎幹宏、副島一孝
日本医科大学形成外科	百束比古、水野博司
北里大学形成外科	内沼栄樹、山田直人
北里大学皮膚科	勝岡憲生、中野敏明
名古屋大学形成外科	鳥居修平、石川博彦
和歌山県立医科大学皮膚科	古川福実、山本有紀
近畿大学形成外科	上石 弘、諸富公昭
大阪医科大学形成外科	上田晃一、大宮由香
福岡大学形成外科	大慈弥裕之、河野克之
神奈川県立こども医療センター	小林真司
国立京都病院皮膚科	十一英子
香川県立中央病院形成外科	柏 尚裕

目次

I. 総括研究報告

組織工学を応用した培養皮膚の実用化に向けた研究

黒柳能光（北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センター）

- 黒柳能光、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、森さと子、Hyun Jung Kim、馬淵 洋：同種培養真皮の製造と供給システム（厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト）. 日本熱傷学会会誌, 29: 28-38, 2003.
- 黒柳能光：皮膚の再生医療。日本再生医療学会雑誌. 2:39-45, 2003
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Development of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and atelo-collagen combined with fibroblasts: fundamental evaluation. J. Biomater. Sci. Polymer Edn. 14:625-641, 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Spongy matrix of hyaluronic acid and collagen as a cultured dermal substitute; evaluation in an animal test. J. Artif. Organs, 6: 64-70. 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Characterization of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and collagen combined with fibroblasts. J. Artif. Organs, 6: 138-144, 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Effects of vascular endothelial growth factor released from cultured dermal substitute on proliferation of vascular endothelial cells in vitro. J Artif. Organs 6: 267-272, 2003.
- Kuroyanagi Y: [Guest Editorial] Studies on Regenerative Medicine in Japan. Artif. Organs, 28: 11-12, 2004.
- Kuroyanagi Y, Kubo K, Matsui H, Kim HJ, Numari S, Mabuchi Y, Kagawa S: Establishment of banking system for allogeneic cultured dermal substitute. Artif. Organs, 28: 13-21, 2004.
- Kubo, K, Kuroyanagi Y: Development of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and atelo-collagen combined with fibroblasts; Cryopreservation. Artif. Organs, 28: 182-188, 2004.

II. 分担研究報告

1. 同種培養真皮の臨床研究：熱傷および難治性皮膚潰瘍治療の研究
杉原 平樹（北海道大学医学部形成外科）
2. 同種培養真皮の臨床研究：難治性皮膚潰瘍治療の研究
真鍋 求（秋田大学医学部皮膚科）
 - 播磨奈津子、安齋眞一、輪湖雅彦、真鍋 求、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：同種培養真皮を用いた皮膚潰瘍治療の試み（厚生科学再生医療ミレニアムプロジェクト）. 日本皮膚科学会雑誌, 113:253-264, 2003.
3. 自家培養真皮の臨床研究：巨大色素性母斑治療の研究
中島 龍夫（慶応義塾大学医学部形成外科）
4. 同種培養真皮の臨床研究：先天性水泡症治療の研究
小川 秀興（順天堂大学医学部皮膚科）
 - 長谷川敏男、溝口将之、須賀 康、池田志孝、小川秀興、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：難治性皮膚潰瘍に対して同種培養真皮が奏効した先天性表皮水泡症（劣勢栄養障害型）の1例. 日本皮膚科学会雑誌, 113: 1651-1659, 2003.
 - Hasegawa T, Suga Y, Mizoguchi M, Ikeda S, Ogawa H, Kubo K, Matsui H, Kagawa S, Kuroyanagi Y: Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in 3 patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. J. Am. Acad. Dermatol. 50: 803-804, 2004.
5. 自家培養表皮の臨床研究：熱傷および巨大色素性母斑治療の研究
熊谷 憲夫（聖マリアンナ医科大学形成外科）
6. 同種培養真皮の臨床研究：難治性皮膚潰瘍治療の研究
鳥飼 勝行（横浜市立大学医学部形成外科）

7. 同種培養真皮の臨床研究：難治性皮膚潰瘍治療の研究
青山 久（愛知医科大学形成外科）

8. 同種培養真皮の臨床研究：難治性皮膚潰瘍治療の研究
宮地 良樹（京都大学医学部皮膚科）
 - 石田勝英、松島佐都子、小西朝子、岩嶋和子、加藤真弓、藤井秀孝、立花隆夫、宮地良樹、黒柳能光：難治性皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の使用経験（厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト）.
Skin Surgery, 12: 2-8, 2003.

9. 同種培養真皮の臨床研究：熱傷および難治性皮膚潰瘍治療の研究
森口 隆彦（川崎医科大学形成外科）
 - 岡 博昭、藤津美佐子、末延耕作、森口隆彦、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：熱傷および難治性皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の臨床使用経験（厚生科学再生医療ミレニアムプロジェクト）.
日本熱傷学会会誌, 28: 333-342, 2002.

10. 同種培養真皮の臨床研究：難治性皮膚潰瘍治療の研究
古江 増隆（九州大学医学部皮膚科）
 - Moroi Y, Fujita S, Fukagawa S, Mashino T, Goto T, Masuda T, Urabe K, Kubo K, Matsui H, Kagawa S, Kuroyanagi Y, Furue M: Clinical evaluation of allogeneic cultured dermal substitutes for intractable skin ulcers after tumor resection. *Eur. J. Dermatol*, 14: 172- 176, 2004.

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

- 黒柳能光、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、森さと子、Hyun Jung Kim、馬淵 洋：同種培養真皮の製造と供給システム（厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト）。日本熱傷学会会誌, 29: 28-38, 2003.
- 黒柳能光：皮膚の再生医療。日本再生医療学会雑誌. 2:39-45, 2003
- 藤森 靖、上田晃一、大宮由香、久保健太郎、黒柳能光：全層皮膚欠損創に対する同種培養真皮の臨床応用。日本形成外科学会誌, 23: 475-484, 2003.
- 長谷川敏男、溝口将之、須賀 康、池田志孝、小川秀興、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：難治性皮膚潰瘍に対して同種培養真皮が奏効した先天性表皮水泡症（劣勢栄養障害型）の1例。日本皮膚科学会雑誌, 113: 1651-1659, 2003.
- 石田勝英、松島佐都子、小西朝子、岩嶋和子、加藤真弓、藤井秀孝、立花隆夫、宮地良樹、黒柳能光：難治性皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の使用経験（厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクト）。Skin Surgery, 12: 2-8, 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Development of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and atelo-collagen combined with fibroblasts: fundamental evaluation. J. Biomater. Sci. Polymer Edn. 14:625-641, 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Spongy matrix of hyaluronic acid and collagen as a cultured dermal substitute; evaluation in an animal test. J. Artif. Organs, 6: 64-70. 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Characterization of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and collagen combined with fibroblasts. J. Artif. Organs, 6: 138-144, 2003.
- Kubo K, Kuroyanagi Y: Effects of vascular endothelial growth factor released from cultured dermal substitute on proliferation of vascular endothelial cells in vitro. J Artif. Organs 6: 267-272, 2003.
- Kuroyanagi Y: [Guest Editorial] Studies on Regenerative Medicine in Japan. Artif. Organs, 28: 11-12, 2004.

- Kuroyanagi Y, Kubo K, Matsui H, Kim HJ, Numari S, Mabuchi Y, Kagawa S: Establishment of banking system for allogeneic cultured dermal substitute. *Artif. Organs*, 28: 13-21, 2004.
- Kubo, K, Kuroyanagi Y: Development of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and atelo-collagen combined with fibroblasts; Cruopreservation. *Artif. Organs*, 28: 182-188, 2004.
- Kashiwa N, Ito O, Ueda T, Kubo K, Matsui H, Kuroyanagi Y: Treatment of full-thickness skin defect with concomitant grafting of 6-fold extended mesh auto-skin and allogeneic cultured dermal substitute. *Artif. Organs*, 28: 444-450, 2004.
- Ohtani T, Okamoto K, Kaminaka C, Kishi T, Sakurane M, Yamamoto Y, Ueda K, Kubo K, Kuroyanagi Y, Furukawa F: Digital gangrene associated with idiopathic hypereosinophilia; treatment with allogeneic cultured dermal substitute (CDS). *Eur. J. Dermatol*, 14: 168-171, 2004.
- Moroi Y, Fujita S, Fukagawa S, Mashino T, Goto T, Masuda T, Urabe K, Kubo K, Matsui H, Kagawa S, Kuroyanagi Y, Furue M: Clinical evaluation of allogeneic cultured dermal substitutes for intractable skin ulcers after tumor resection. *Eur. J. Dermatol*, 14: 172- 176, 2004.
- Hasegawa T, Suga Y, Mizoguchi M, Ikeda S, Ogawa H, Kubo K, Matsui H, Kagawa S, Kuroyanagi Y: Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in 3 patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 50: 803-804, 2004.

IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）総括研究報告書
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
主任研究者 黒柳能光・北里大学人工皮膚研究開発センター教授

研究要旨：国産初の製品開発を目指して、13年度から同種培養真皮を用いた全国規模の臨床研究を展開した。平成15年度は22の大学病院と1つの総合病院において倫理委員会の承認をえて臨床研究を行った。熱傷や難治性皮膚潰瘍などを対象として、これまでに350症例の臨床研究を行い90%の症例において優れた結果が得られた。また、小児の熱傷瘢痕や巨大色素性母斑を対象として、20症例の臨床研究を行い優れた結果が得られた。

分担研究者：杉原平樹（北大形成外科）、真鍋 求（秋田大皮膚科）、中島龍夫（慶應大形成外科）、小川秀興（順天堂大皮膚科）、熊谷憲夫（聖マリアンナ医大形成外科）、鳥飼勝行（横浜市大形成外科）、青山 久（愛知医大形成外科）、宮地良樹（京都大皮膚科）、森口隆彦（川崎医大形成外科）、古江増隆（九州大皮膚科）

自家培養真皮は、熱傷瘢痕や色素性母斑を切除した創面に適用することにより、良好な移植床を形成し、極薄い自家分層植皮を可能にした。

D. 考察

熱傷や難治性皮膚潰瘍などを対象にしてこれまでに350例に同種培養真皮を適用して約90%の症例において「有用」あるいは「極めて有用」の結果が得られた。早期の新生組織の形成は同種培養真皮から産生される VEGF などの細胞成長因子が大きく関与していることが示唆される。

E. 結論

ヒアルロン酸やコラーゲンは、創傷治癒を促進する生体材料であり、材料自身の創傷治癒促進効果と線維芽細胞が産生する細胞成長因子による創傷治癒促進効果が相乗的に発揮される優れた生物学的創傷被覆材として期待できる。一方、自家培養真皮は、患者自身の培養した線維芽細胞が生着して良好な移植床の形成が可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表

和文5編、英文11編（別紙参照）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

黒柳能光：組織再生用基材、移植用材料及びそれらの製法 特許願提出 12, 2000

A. 研究目的

同種培養真皮および自家培養真皮の多施設臨床研究を展開して再生医療の普及を目指す。

B. 研究方法

同種培養真皮および自家培養真皮はヒアルロン酸とアテロコラーゲンから成る2層構造のスポンジ状シートに線維芽細胞を播種して培養する方法により製造する。北里大学人工皮膚研究開発センターにおいて、指定の医療機関から輸送されたウイルス検査陰性の皮膚小片から線維芽細胞を採取し、大量培養して同種培養真皮を製造し、これを -152°C で冷凍保存し、当該医療機関に冷凍状態で供給する。自家培養真皮は、患者自身の線維芽細胞を用いて製造し、フレッシュな状態で各医療機関へ供給する。

C. 研究結果

同種培養真皮は種々の細胞成長因子を産生・放出することにより、熱傷や難治性皮膚潰瘍の治癒を顕著に促進した。

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 杉原平樹 北海道大学形成外教授

研究要旨：同種培養真皮の最大の特徴はその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子など各種成長因子やサイトカインを放出することにある。これにより創部周囲からの血管新生を促し良好な肉芽増生と表皮形成を可能とし、難治性皮膚潰瘍の早期治癒が期待される。そこで種々の難治性皮膚潰瘍に対して北里大学で開発した同種培養真皮を適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

当研究班が長年臨床研究を展開してきた難治性皮膚疾患に伴う下腿潰瘍の早期治癒を実現するための新規治療法の確立を、北里大学黒柳研究班と目指す。

B. 研究方法

数ヶ月から数年にわたり保存的治療に抗して存在する難治性下腿潰瘍を中心とした種々の皮膚潰瘍を対象とする。同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成。北海道大学において-85℃で保存し、用時解凍し用いる。創部を洗浄後、同種培養真皮にて被覆。本操作を週1から2回繰り返す。

尚本研究は北海道大学倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施する。

C. 研究結果

本期間中に実施症例は無かった。

D. 考察

特に無し。

E. 結論

従来 of 創傷被覆材に比べ、同種培養真皮は有効であることが予想される。これは同種培養真皮の材料自身の創傷治癒促進効果と線維芽細胞から産生される血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果と考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

無し。

2. 学会発表

無し。

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

無し

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書

細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究

分担研究者 真鍋 求 秋田大学感覚器学講座皮膚科学・形成外科学分野教授

研究要旨：同種培養真皮の最も大きな特徴はその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子などの各種成長因子やサイトカインを放出出来ることにある。これによって、創部周囲からの血管新生を促し従来と比較にならない良好な肉芽増生を可能とし、創傷の早期治癒が望める可能性を有している。そこで我々は、北里大学が開発した同種培養真皮を難治性皮膚潰瘍患者に適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

当科における糖尿病性皮膚潰瘍などの難治性皮膚潰瘍に対して、北里大学人工皮膚研究開発センターで作成された同種培養真皮を適用し、速やかな創傷治癒を目指す。

B. 研究方法

北里大学人工皮膚研究開発センターで作成された同種培養真皮は、ドライアイス梱包の後、秋田大学感覚器学講座皮膚科学・形成外科学分野に搬送された。この同種培養真皮を同研究室で-152℃に保存、用時解凍した。患者創部へ移植する際には、皮膚欠損用被覆材を用いて同種培養真皮を保護し、その後定法に従った創部保護と管理を行った。

なお、本研究は秋田大学倫理委員会の承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

糖尿病患者の熱傷後皮膚潰瘍 2 例、静脈瘤症候群に伴う皮膚潰瘍 1 例、小児麻痺患者に生じた皮膚潰瘍 1 例の計 4 例に同種培養真皮を適用した。全例において移植約 7～10 日後には肉芽が増生し、その後速やかに創部の上皮化が進行した。

D. 考察

糖尿病患者の皮膚潰瘍は肉芽形成が不良であるため創傷治癒が遅延し、治療に難渋することが多い。今回我々は同種培養真皮を用いることで、良好な肉芽の増生が得られ、その後の創部

管理を容易にした。また、創部環境が整うことにより、それまで困難であった血糖のコントロールも良好となった。また、他 2 例の皮膚潰瘍も従来の治療では効果が無く、難治性の経過をとっていたが、同種培養真皮により速やかに創が治癒した。

以上の結果より、同種培養真皮の有用性が推察される。

E. 結論

同種培養真皮は肉芽形成を促進し、創治癒期間の短縮するなどの効果がある。これは、同種培養真皮の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血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果であろう。

また、同種培養真皮は何らかの抗菌作用を持つ物質を放出することにより、軽度の細菌感染を合併した病巣に対しても清浄効果を有しているものと思われる。これも本法の利点であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

播摩奈津子、安齋眞一、輪湖雅彦、真鍋求、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：同種培養真皮を用いた皮膚潰瘍治療の試み：厚生科学再生医療ミレニアムプロジェクト
日皮会誌 113: 253-264, 2003

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 小川秀興 順天堂大学学長・皮膚科教授

研究要旨：同種培養真皮の最大の特徴はその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子など各種成長因子やサイトカインを放出することにある。これにより創部周囲からの血管新生を促し良好な肉芽増生と表皮形成を可能とし、難治性皮膚潰瘍の早期治癒が期待される。そこで種々の難治性皮膚潰瘍に対して北里大学で開発した同種培養真皮を適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

当研究班が長年臨床研究を展開してきた難治性皮膚疾患に伴う皮膚潰瘍の早期治癒を実現するための新規治療法の確立を、北里大学黒柳研究班と目指す。

B. 研究方法

数ヶ月から数年にわたり保存的治療に抗して存在する先天性表皮水疱症に伴う皮膚潰瘍を中心に、種々の難治性皮膚潰瘍を対象とした。同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成。順天堂大学において -85°C で保存し、用時解凍し用いた。創部を洗浄後、同種培養真皮にて被覆。本操作を週1から2回繰り返した。なお本研究は順天堂大学倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

各症例とも治療開始後約7日後には肉芽の増生が認められ、その後良好な肉芽組織上には周囲からの表皮形成が進行。2から6週で創の著明な縮小または完全な上皮化を認めた。一部の症例においては肉芽形成後に（自家）分層植皮術を施行し良好な生着を得た。

D. 考察

先天性表皮水疱症などの難治性皮膚疾患に伴う皮膚潰瘍は良好な肉芽形成に難渋することが多く、これが創傷治癒遅延の一因と考えられる。今回同種培養真皮を用いて良好な肉芽形成が得られたため、引き続いて表皮形成あるいは（自家）分層植皮術の良好な生着が可能になった。以上より同種培養真皮の有用性が推察される。

E. 結論

従来の創傷被覆材に比べ、同種培養真皮は

めて有効である。これは同種培養真皮の材料自身の創傷治癒促進効果と線維芽細胞から産生される血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果と考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

長谷川敏男他：難治性皮膚潰瘍に対して同種培養真皮が奏功した先天性表皮水疱症（劣性栄養障害型）の1例、日本皮膚科学会誌 113: 1651-1659, 2003

Toshio Hasegawa, et al : Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in three patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. J.Amer. Acad Dermatol. 50:803-804,2004.

Toshio Hasegawa, et al : The efficacy of using allogeneic cultured dermal substitute for treating intractable skin ulcer and large skin defect prior to autologous skin grafting, Int. J. Dermat. in submission

2. 学会発表

長谷川敏男他：同種培養真皮を用いた難治性皮膚潰瘍治療の試み 先天性表皮水疱症 3例への適応 第102回日本皮膚科学会総会

長谷川敏男他：Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in three patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa 第13回日韓皮膚科学会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 中島龍夫 慶應義塾大学形成外科科教授

研究要旨：自家培養真皮の特色としてその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子など各種成長因子やサイトカインを放出するため、植皮のための良好な移植床形成を促進することが挙げられる。また本法により植皮後の癒痕拘縮抑制効果が期待される。本研究では自家培養真皮移植により移植床形成効果、および分層植皮後の癒痕拘縮抑制効果を目的とした分層植皮のための移植床形成を目的とする。そこで、北里大学で開発した自家培養真皮を適用し、その有用性を評価

A. 研究目的

本研究は、自家培養真皮移植が分層植皮のための移植床形成に及ぼす影響を観察するとともに、従来通常に分層植皮術のみでは癒痕紺宿を来し易いと考えられる部位に自家培養真皮を移植し、移植床形成後に分層植皮を行うことで、長期的な癒痕拘縮抑制効果を評価して臨床で実現するための新規治療法の確立を、北里大学黒柳研究班と目指す。

B. 研究方法

自家培養真皮移植に先立ち、培養真皮作成のための皮膚を採取した。皮膚は、局所麻酔下に患者本人より1 x 2 cm大の皮膚を局所麻酔下に下腹部より採取する。採取した皮膚は直ちに北里大学人工皮膚研究開発センターに冷却下に郵送し、同施設で自家培養真皮の作成を行う。その後、癒痕または母斑切除後に作成した自家培養真皮移植術を慶應義塾大学で行う。1週間後に、分層植皮片を採取し、作成した移植床に植皮術を行う。また、植皮術の際に採皮創の上皮化促進を目的として、自家培養真皮移植を行い、上皮化促進の有無を観察する。その後植皮片の生着状況、癒痕拘縮の抑制程度を観察する。なお本研究は慶應義塾大学医学部附属病院の倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で自家培養真皮移植を実施した。

C. 研究結果

自家培養真皮移植により1週間後に肉眼的に良好ない移植床が形成された。植皮片は良好に生着した。しかし手術時期と研究期間との関

抑制効果は今後引き続き、長期的な経過観察を要する。

D. 考察

関節部の屈側などには、従来どおりの方法で分層植皮を行うと、癒痕拘縮を起こすことが多い。しかし一方で幼少時の手掌熱傷後癒痕拘縮などに全層植皮術を行っても成長とともに植皮片の成長が間に合わず再拘縮を来し再手術を要することが多い。このような理由から将来的な再手術を見越して、あえて頭皮などから分層植皮を行い、癒痕拘縮の解除を行うための手術を行うことも多い。しかし、この際でも癒痕拘縮を極力抑制することが出来れば、QOLを向上させることが出来る。本研究では症例の手術時期の関係から、研究期間中における長期的な観察は行えていないので、今後引き続き観察を行う必要がある。なお移植床形成に関しては、肉芽形成は良好であり、植皮片の生着には有利であった。また採皮部の上皮化も従来の創傷被覆剤に比べ良好であった。

E. 結論

植皮片生着のために有用な肉芽形成は従来の創傷被覆剤に比べ有用であった。また、採皮創の上皮化も促進される傾向があった。長期的に癒痕拘縮効果について経過観察を行う必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請
なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 鳥飼勝行 横浜市立大学形成外科教授

研究要旨：同種培養真皮では、その真皮内に培養された線維芽細胞から持続的に各種成長因子やサイトカインが放出され、これにより創部周囲からの血管新生を促し良好な肉芽増生と表皮形成を可能にする。これを通常の治療では治癒しない難治性皮膚潰瘍に適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

当研究班が臨床研究を展開してきた難治性皮膚潰瘍の早期治癒を実現するための新規治療法の確立を、北里大学黒柳研究班と目指す。

B. 研究方法

数ヶ月にわたり保存的治療に反応しない種々の難治性皮膚潰瘍を対象とした。同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成。横浜市立大学において-85℃で保存し、必要時解凍し用いた。創部を洗浄後、同種培養真皮で被覆。本操作を週1から2回繰り返した。なお本研究は横浜市立大学倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

各症例とも治療開始後1から2週には肉芽の増生が認められ、その後良好な周囲からの表皮形成が進行した。2から6週で創の縮小または完全な上皮化を認めた。1症例で過剰肉芽形成を認め中止した。しかし、創は縮小し臨床的に良好な治療効果を得ることができた。

D. 考察

創傷治癒遅延の原因が明確に同定できない難治性潰瘍に対し、同種培養真皮を用いて良好な肉芽形成が得られた。さらに表皮形成による創の縮小あるいは収縮による創治癒を認めた。これは従来の軟膏療法では得ることができない結果であり、難治性潰瘍に対する同種培養真皮の有効性が推察される。

E. 結論

軟膏など従来の創傷治療剤や最近開発されている創傷被覆材と比較すると同種培養真皮は肉芽形成、上皮化において優れた効果があり、また副作用をほとんど認めず臨床的に有用な治療法である。これは培養真皮の線維芽細胞が産生する種々のサイトカインによる創傷治癒促進効果であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

三上太郎, 広富浩一, 小林眞司, 前川二郎, 鳥飼勝行, 黒柳能光: 培養真皮の4℃冷蔵保存期間と VEGF 産生能に関する研究. 第 11 回日本形成学会基礎学術集会, 仙台, 2002, 10.

広富浩一, 三上太郎, 小林眞司, 前川二郎, 大木健作, 醍醐佳代, 鳥飼勝行, 黒柳能光: 同種培養真皮の臨床適用経験 (厚生科学再生医療プロジェクト). 第 32 回日本創傷治療学会, 福岡, 2002, 12

三上太郎, 広富浩一, 前川二郎, 大木健作, 醍醐佳代, 安村和則, 鳥飼勝行, 久保健太郎, 松井宏道, 黒柳能光: 難治性潰瘍に対する同種培養真皮の使用経験 (厚生科学再生医療プロジェクト). 第 2 回日本再生医療学会, 神戸, 2003.3

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 熊谷 憲夫 聖マリアンナ医科大学・形成外科教授

研究要旨：生細胞を含有する皮膚代替物の最大の利点はそのデバイス内に培養された表皮細胞や線維芽細胞がサイトカインバランスを崩す事無く、恒常的に創治癒関連因子を産生放出する事にある。この事は、創治癒過程における個々の段階を生理的に逸脱する事無く、自然な治癒を導き出せる事にある。今回北里大学が開発した同種培養真皮、本学における自家培養表皮の創治癒及ぼす有用性を評価した。

A. 研究目的

当教室は 1985 年以来自家培養表皮移植を行なう事で、各種広範囲皮膚欠損患者の治療を行ってきた。今回、本技術を北里式同種培養真皮へも応用する事で、その有用性と問題点を探る事を目的とした。

B. 研究方法

刺青ならびに巨大母斑の患者を対象とし、一部熱傷患者への使用を試みた。同種培養真皮は、 -152°C で保存しておいたものを -85°C で 30 分間予備解凍し、その後 37°C で急速解凍したものを用いた。又培養表皮は、Green 法において培養した自家培養表皮を用いた。いずれも、本学倫理委員会承認のもと、十分な IC を得たうえ使用に供した。

C. 研究結果

同種培養真皮使用例においては、いずれも早期の肉芽増生が認められ、特に不良肉芽過増生などが認められなかった。また、近年開発された bFGF のような副作用としての創部の骨化なども認められなかった。その後、創部周囲からの上皮進展に伴って、創面積の縮小ならびに閉鎖が認められた。一方、自家培養表皮移植は移植 7 日後には表皮生着により、既に創部は被覆されており、創治癒の短縮が認められた。

D. 考察

近年開発されている各種の創傷治癒促進剤などは、時に著効を呈するも、各種基礎疾患を合

併する患者においては、期待した効果が得られない事が多い。これは主に、創治癒に関わる様々なサイトカインのバランスを無視した事に由来すると思われる。本培養真皮や培養表皮はその意味で、生細胞を含有する製剤であり、細胞自体の生理機能に由来する全く新たな治療法である。この事は、生体のホメオスタシスを維持しつつ、本デバイスが生体側の治癒力を引き出す事が有効作用機序の本体と考えられ、ある意味では細胞治療である。今回我々は、広範囲皮膚欠損を主体とする治療にその有効性を見出したが、本デバイスはその細胞種を変える事で新たな治療展開がも期待される。以上より同種培養真皮の今後の有用性が推察される。

E. 結論

従来の創傷被覆材ならびに創治癒促進薬剤に比べ、同種培養真皮ならびに培養表皮は極めて有効であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

高橋雄、大島秀男、井上 肇、鹿井史子他：同種培養真皮による創傷治療の経験、形成外科 2004 印刷中

2. 学会発表

井上 肇、熊谷憲夫、上皮系培養技術の再生医療への応用-培養表皮の現況とその可能性-、第 43 回日本先天異常学会（大阪）2003

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 青山久 愛知医科大学形成外科教授

研究要旨：同種培養真皮の特徴は、培養された線維芽細胞が持続的に各種成長因子やサイトカインを放出することにある。これを皮膚潰瘍に適用することで創の治癒が促進されることが期待できる。われわれはこれまでに同種培養真皮が皮膚悪性腫瘍切除後の欠損創に対し有効に作用することを確認してきた。今年度は、難治性皮膚潰瘍に対して北里大学で開発した同種培養真皮を適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

平成14年度の臨床研究において、われわれは皮膚悪性腫瘍を切除した後の欠損創に同種培養真皮を適用することで、創の縮小・良好な植皮床の形成がみられることを報告した。本年度の研究では、これまでの単純性皮膚潰瘍とは異なり種々の基礎疾患に由来する複雑性潰瘍に対しても同種培養真皮が有効であるかどうかを確認することを目的とした。

B. 研究方法

保存的治療に抵抗して長期間治癒しない、基礎疾患を背景に有する皮膚潰瘍を対象とした。同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成したものの供給を受けた。愛知医科大学において-80℃で保存し、用時解凍し用いた。創部を洗浄後、同種培養真皮にて被覆。本操作を週2回施行した。なお本研究は愛知医科大学倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

慢性放射線潰瘍の1例とバージャー病の1例に対して臨床研究を実施した。2症例とも最初に十分な外科的デブリードマンを施行した後、2週間同種培養真皮を適用した。しかる後に遊離皮膚移植をおこなったところ、移植皮膚の生着と創の閉鎖を確認し得た。

D. 考察

慢性放射線潰瘍やバージャー病による潰瘍はきわめて難治であり、従来遊離皮膚移植の適用とはみなされておらず、前者に対しては皮弁による被覆が、後者に対しては患肢の切断が必要とされてきた。同種培養真皮を用いることで、より侵襲の少ない遊離皮膚移植による創閉鎖の可能性がでてきたと考えられる。今後症例数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

同種培養真皮は、種々の原因疾患による複雑性潰瘍においても良好な植皮床を形成し、遊離皮膚移植による創閉鎖を可能とする有用な手段であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請
なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 宮地良樹 京都大学皮膚科教授

研究要旨：同種培養真皮の最も大きな特徴はその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子などの各種成長因子やサイトカインを放出出来ることにある。これによって創部周囲からの血管新生を促し、従来と比較にならない良好な肉芽増生が可能となり、従来の皮膚潰瘍治療薬や創傷被覆剤で改善を認めなかった難治性皮膚潰瘍に対して、創傷の早期治癒が望める可能性を有している。そこで、北里大学で開発した同種培養真皮を適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

本研究は、従来使用されている創傷被覆材や軟膏では効果が不十分と考えられる創面（難治性潰瘍、広範囲熱傷など）に対して、同種培養真皮移植を行い、その有効性を評価して、創傷の早期治癒を実現するための新規治療法の確立を、北里大学黒柳研究班と目指す。

B. 研究方法

同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成されたものを、京都大学に於いて-135℃で保存し、用時解凍し用いた。創部を洗浄後、解凍した同種培養真皮で被覆。本操作を週2回繰り返した。
なお本研究は京都大学医学部附属病院医の倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で同種培養真皮移植を実施した。

C. 研究結果

静脈瘤性症候群にともなう難治性下腿潰瘍2例に対し、用時解凍、洗浄後患者創部への移植を行い、定法に従った創部保護と管理を行った。一例は移植約7日後ごろより周辺から上皮化をみとめ、移植後約5週間で創は完全に上皮化した。また、もう一例では移植約7日後ごろから良好な肉芽の増生を認め、約6週間で創全体が良好な肉芽で覆われるようになり、吸引水疱植皮術が可能となった。吸引水疱植皮の生着も良好で、速やかに創の上皮化が進行した。

D. 考察

静脈瘤症候群にともなう皮膚潰瘍は、従来良好な肉芽形成に難渋することが多く、これが創傷治癒遅延の原因と考えられている。今回の症例では、静脈うっ滞を引き起こしている原疾患の治療が困難であったため難治となり、従来の軟膏や創傷被覆剤ではなかなか改善認めなかった。しかし、同種培養真皮を用いることで、良好な肉芽の増生、速やかな創の上皮化が得られ、創の治癒促進につながった。また、施行前は感染を繰り返していた創も、施行中は感染を起こすことなく創面は清浄に保たれ、感染に対するコントロールも良好であった。
以上から、同種培養真皮の有用性が推察される。

E. 結論

同種培養真皮は肉芽形成を促進し、創治癒期間の短縮をはかる点で有効と言える。これは、同種培養真皮の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血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果と考えられる。また、感染に対するコントロールが良好な点でも従来の創傷被覆剤に比べ、大きな利点となっている。

F. 研究発表

1. 論文発表

石田 勝英、松島佐都子、小西朝子、岩嶋和子、加藤真弓、藤井秀孝、立花隆夫、宮地良樹、黒柳能光：難治性皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の使用経験：Skin Surgery, 12(2):2-8 2003.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 森口隆彦 川崎医科大学形成外科教授

研究要旨：同種培養真皮の最も大きな特徴はその真皮内に培養された線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子などの各種成長因子やサイトカインを放出出来ることにある。これによって、創部周囲からの血管新生を促し良好な肉芽増生を可能とし、創傷の早期治癒が望める可能性を有している。そこで、北里大学で開発した同種培養真皮を利用した移植を試み、その有用性を川崎医科大学にて評価した。

A. 研究目的

熱傷創面あるいは難治性皮膚潰瘍へ同種培養真皮移植を行い、その有用性を検討することを目的とする。本研究は、北里大学黒柳研究班ともに創傷の早期治癒を実現するための新規治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

同種培養真皮は北里大学人工皮膚研究開発センターで作成されたものを、川崎医科大学形成外科に於いて -152°C で保存し、必要時に解凍し用いた。なお本研究は川崎医科大学倫理委員会承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で同種培養真皮移植術を実施した。

C. 研究結果

北里大学人工皮膚研究開発センターよりドライアイス梱包され搬送された同種培養真皮は、川崎医科大学形成外科研究室に於いて -152°C に使用時まで保存された。

深達性Ⅱ～Ⅲ度熱傷患者 5 例ならびに下腿の膠原病性皮膚潰瘍、熱傷後の皮膚潰瘍、糖尿病性皮膚潰瘍など潰瘍 9 例、合計 14 例に同種培養真皮を貼付した。貼付は、必要時に解凍し洗浄後患者創部へ移植を行った。移植後は、抗菌剤入り皮膚欠損用一時緊急被覆材を用いて同種培養真皮を保護し、その後定法に従った創部保護と管理を行った。新鮮熱傷患者では移植後約 1 週間で創面積の約 50%の縮小を認めた。一方、難治性皮膚潰瘍では創面積の縮小は緩徐であった。しかし肉芽の形成が良好となった時点で自家遊離分層植皮を潰瘍部へ施行した。植皮術は、皮膚潰瘍 9 例中 7 例に施行した。これら 7 例中 5 例が完全生着し潰瘍は治癒した。

例は部分生着のため小潰瘍を残す結果となった。他 1 例では全く生着しなかったが、さらに培養真皮の貼付を継続したところ表皮形成し治癒した。潰瘍例で自家遊離分層植皮を行わなかった 2 例は表皮化治癒が 1 例、残り 1 例では潰瘍面積の 80%程度の縮小を認めたが小潰瘍を残した。

D. 考察

深達性Ⅱ～Ⅲ度熱傷患者では早期に良好な肉芽形成を促すことが早期の創閉鎖に繋がる。今回、培養真皮を貼付後約 1 週間で 50%程度の創面積の縮小を認めており、良好な肉芽形成と表皮形成により新鮮熱傷の創管理を容易にしたと思われる。一方、難治性皮膚潰瘍は肉芽形成に難渋することが多く、これが創傷治癒遅延の原因と考えられている。今回この同種培養真皮を用いることで、良好な肉芽の増生が得られ、その後の遊離自家分層植皮を可能にした。また植皮を施行しなかった症例も、著明な創面積の縮小を認めた。以上から同種培養真皮は従来型の無細胞系の真皮マトリックス製材に比べ良好な肉芽形成を認めることが多く、極めて有効と思われた。これは同種培養真皮の線維芽細胞から産生される血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果と考えられる。

E. 結論

今回の適応症例 14 例すべてにおいて改善を認めており、このことより同種培養真皮の有用性が推察される。

F. 研究発表

岡 博昭、末延耕作、森口隆彦、久保健太郎、松井宏道、黒柳能光：熱傷および難治性皮膚潰

瘍に対する同種培養真皮の使用経験（厚生科学再生医療プロジェクト）. 第 45 回日本形成外科学会総会 2002 年 4 月 17 日（於 長崎市）
岡 博昭、森口隆彦、稲川喜一、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：膠原病による難治性下腿皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の使用経験. 第 46 回日本形成外科学会総会 2003 年 4 月 10 日（於 神戸市）

1. 論文発表

岡 博昭、藤津美佐子、末延耕作、森口隆彦、久保健太郎、松井宏道、加川志津子、黒柳能光：熱傷および難治性皮膚潰瘍に対する同種培養真皮の臨床使用経験. 熱傷 28：333-342, 2002.
岡 博昭、森口隆彦：培養皮膚. 救急医学 27：77-78, 2003.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
分担研究者 古江増隆 九州大学・皮膚科教授

研究要旨：同種培養真皮の最も大きな特徴はその材料自身（コラーゲン+ヒアルロン酸）の創傷治癒促進効果と真皮内に播種された同種線維芽細胞が持続的に血管内皮成長因子などの各種成長因子やサイトカインを放出できることにある。これによって、創部周囲からの血管新生を促し良好な肉芽増生を可能とし、創傷の早期治癒が望める可能性を有している。そこで我々は、北里大学が開発した同種培養真皮を難治性皮膚潰瘍患者に適用し、その有用性を評価した。

A. 研究目的

当科における下腿潰瘍・膠原病性皮膚潰瘍・皮膚腫瘍切除後などの難治性皮膚潰瘍に対して、北里大学人工皮膚研究開発センターで作成された同種培養真皮を適用し、速やかな創傷治癒を目指す。

B. 研究方法

北里大学人工皮膚研究開発センターで作成された同種培養真皮は、ドライアイス梱包の後、九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野に搬送された。この同種培養真皮を同研究室で-80℃に保存、用時解凍した。患者創部へ移植する際には、皮膚欠損用被覆材を用いて同種培養真皮を保護し、その後定法に従った創部保護と管理を行った。

なお、本研究は九州大学倫理委員会の承認のもと、患者ならびに患者家族に十分な説明と同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

皮膚腫瘍切除後の皮膚潰瘍 4 例、静脈瘤症候群に伴う皮膚潰瘍 2 例、放射線皮膚潰瘍 1 例、人工透析中の外傷性皮膚潰瘍 1 例、膠原病による皮膚潰瘍 3 例、コレステロール塞栓症による潰瘍 1 例、の計 12 例に同種培養真皮を適用した。全例において移植約 7～10 日後には肉芽が増生し、良好な植皮床となった。植皮せずに経過した例では、その後比較的速やかに創部の上皮化が進行した。

D. 考察

難治性の皮膚潰瘍は肉芽形成が不良であるため創傷治癒が遅延し、治療に難渋することが多い。今回我々は同種培養真皮を用いることで、

良好な肉芽の増生が得られ、その後の創部管理を容易にした。いずれも従来の治療では効果が無く、難治性の経過をとっていたが、同種培養真皮により速やかに移植床が形成され植皮可能となり、その生着は極めて良好であった。また、植皮しなかった例においても、特に強皮症による指の潰瘍 3 例に完全上皮化が認められた。

従来の創傷被覆材に比べ、同種培養真皮は極めて有効である。これは同種培養真皮の材料自身（コラーゲン+ヒアルロン酸）の創傷治癒促進効果と同種線維芽細胞から産生される血管内皮成長因子などのサイトカインによる創傷治癒促進効果の相乗効果と考える。以上の結果より、同種培養真皮の有用性が推察される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yoichi Moroi et al: Clinical evaluation of allogeneic dermal substitutes for intractable skin ulcers.
Eur. J. Dermatol. 14: 172-176, 2004.

2. 学会発表

藤田尚平他：同種培養真皮を用いた難治性皮膚潰瘍治療の試み 第 102 回日本皮膚科学会総会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

なし