

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：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、当教室において確立した培養表皮の移植効率を上げ、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培養表皮移植を試み、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自家培養表皮移植術の移植効率の向上を目的とし、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、聖マリアンナ医科大学に於いて -152°C で保存し、用時解凍し用いた。自家培養表皮は、患者から得られた皮膚の小片を定法に従って培養し、平均約2週間で臨床に供せるだけの培養表皮を得ることが出来た。なお本研究は聖マリアンナ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と自家ならびに同種培養表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、聖マリアンナ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。

足踵部の糖尿病性皮膚潰瘍および糖尿病性の熱傷潰瘍患者など11例に用時解凍、洗浄後患者創部への移植を行い、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。移植約7日後には良好な肉芽の増生が認められ、培養表皮移植が可能となり約1ヶ月で創は完全治癒した。同時に移植直前に解凍された同種培養真皮の一部を採取し、解凍直後の真皮内線維

芽細胞の生存性についてMTS法を用いて検討し、その生存も確認された。

D. 考察

糖尿病性の皮膚潰瘍は、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、その後の創部管理を容易にした。また、創部環境が整うことで、炎症指標も好転し患者の全身状態が改善でき、同時に困難であった血糖コントロールをも可能とするという報告が糖尿病センターより得られた。以上から、同種培養真皮の有用性が推察される。

E. 結論

従来型の無細胞系の真皮マトリクス製材に比べ、同種培養真皮は創治癒期間の短縮を含め極めて有効と言える。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。

F. 研究発表

1. 論文発表

松崎恭一他：形成外科領域におけ自家培養表皮の有用性について、形成外科43:533-540,2000

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請

なし

平成14年度厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書概要

- (1) 研究費の名称= 厚生労働科学研究費補助金
- (2) 研究事業名= ヒトゲノム・再生医療等研究事業
- (3) 細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究 (H12-再生-010)
- (4) 国庫補助金精算所要額 (円) = 37,000,000
- (5) 研究期間 (西暦) = 2000~2002
- (6) 研究年度 (西暦) = 2002
- (7) 主任研究者名= 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)
- (8) 分担研究者名= 熊谷憲夫 (聖マリアンナ医科大学医学部形成外科)
- (9) 研究目的

本研究は、同種 (他家) 培養真皮の臨床研究を展開してきた黒柳研究班と自家培養表皮の臨床研究を展開してきた熊谷研究班のこれまでの技術的な実績を基盤として新しい治療法の確立を目指すことでスタートした。自家培養表皮に関しては、米国では1987年に企業化に成功しており、数年前から我が国でもベンチャー企業が製造認可に向けて臨床試験を展開している。自家培養表皮については、技術面で特段に進展させる余地は見られない。そこで、米国で市販されている同種培養真皮に対抗する国産品の開発に軸足を移動させることにした。北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターで開発した同種培養真皮の多施設臨床研究を全国規模で推進することにより産業化への基盤づくりを研究の目的とした。本研究は、厚生労働省から発表されたガイドラインに準じて安全性を確保した同種培養真皮の製造と供給体制の確立が基本であり、それを用いた多施設臨床研究の成果を学会発表をとおして医療従事者に情報提供をすることを最終目的とした。

(10) 研究方法

同種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。北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターでは、分担研究機関である聖マリアンナ医科大学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、大量培養してマスターセルとワーキングセルを作成する。このマスターセルについて、専門機関に依頼して再度ウイルス検査を行い陰性であることを確認する。ワーキングセルを順次解凍して継代培養して同種培養真皮を製造する。製

造の際、マイコプラズマ検査ならびに細菌・真菌検査を行い陰性であることを確認する。製造した同種培養真皮を一時的に -152°C の超低温フリーザーで凍結保存し、順次、医療機関に冷凍状態で供給するシステムを確立している。実際には発泡スチロールの箱に凍結同種培養真皮を入れドライアイスを入れて冷凍宅配便で輸送する。各医療機関では、 -85°C の低温フリーザーに収納し、適宜、解凍して臨床使用する。ここで、皮膚提供に関しては、聖マリアンナ医科大学倫理委員会の承認をうけ、皮膚提供者から文書による同意をうけた。一方、同種培養真皮の適用に関しては、各医療機関の倫理委員会の承認をうけ、患者から文書による同意をうけた。

(11) 結果と考察

米国で製品化された同種培養真皮（ダーマグラフトおよびトランスサイト）と本研究で開発した同種培養真皮の相違点は、マトリックスである。線維芽細胞が産生するサイトカインや細胞外マトリックスは、創傷治癒に有効に作用するので、マトリックス自身の創傷治癒促進能力が相乗的な効果を発揮して同種培養真皮の性能を決定すると考えられる。コラーゲンやヒアルロン酸は、創傷治癒を促進する生体材料であり本研究で開発した同種培養真皮は優れた生物学的創傷被覆材として期待できる。

平成13年度からは、下記の医療機関の協力を得て臨床研究を展開した。北海道大形成外科、秋田大皮膚科、慶應大形成外科、東京女子医大形成外科、日本医大形成外科、順天堂大皮膚科、聖マリアンナ医大形成外科、北里大形成外科、北里大皮膚科、横浜市立大形成外科、横浜市立大皮膚科、名古屋大形成外科、愛知医大形成外科、金沢医大形成外科、京都大皮膚科、和歌山県立医大皮膚科、近畿大形成外科、大阪医大形成外科、川崎医大形成外科、岡山大皮膚科、鳥取大皮膚科、香川医大形成外科、福岡大形成外科、九州大皮膚科、湘南鎌倉総合病院形成外科、国立京都病院皮膚科、香川県立中央病院形成外科、北九州総合病院形成外科が臨床研究に参加した。

再生医療の普及の一環として、国内の学会で臨床研究発表を積極的に行った。第45回日本形成外科学会（平成14年4月長崎）：6演題、第28回日本熱傷学会（平成14年6月大阪）：5演題、第32回日本創傷治癒学会（平成14年12月福岡）：13演題、第2回日本再生医療学会（平成15年3月神戸）：8演題、第46回日本形成外科学会（平成15年4月神戸）：3演題の発表を行い、第102回日本皮膚科学会（平成15年5月浦安）：3演題の発表を行

う。地方会を含めて多施設臨床研究の発表は70演題にのぼる。

これまでの臨床研究実績は264症例であり、有効症例255症例（プロトコル外の参考症例9症例）中、「極めて有用」163例、「有用である」77例、「普通」13例、「有用でない」2例であった。なお、全ての臨床研究記録書は、北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターに保管しており、厚生労働省の要請があれば全てを開示することにしてある。

（12）結論

角化細胞を用いた自家培養表皮（エピセル）は米国で製品化されているが再生医療として本格的に普及する情勢ではない。自家培養表皮が再生医療として確立されるためには、良好な移植床の形成が重要なポイントであり、米国では凍結保存屍体皮膚の併用により移植床を形成してから自家培養表皮を適用することが推奨されている。しかし、国内では凍結保存屍体皮膚の入手量に制約がある。それゆえ、本研究の一つの課題である同種培養真皮の適用による移植床の形成は重要である。同種培養皮膚代替物（培養表皮、培養真皮、培養皮膚）は永久生着は不可能であるが、細胞が産生する種々のサイトカインや細胞外マトリックスにより創傷治癒を顕著に促進する。それゆえ、「生物学的創傷被覆材」として分類される。角化細胞は創傷治癒を促進する種々のサイトカインを産生する。一方、線維芽細胞はサイトカインの他に細胞外マトリックスを産生する。それゆえ、浅達性の皮膚欠損創には同種培養表皮、深達性の皮膚欠損創には同種培養真皮が有効である。浅達性皮膚欠損創の治療であれば安価な創傷被覆材が利用できるため同種培養表皮の製品化は現実性に乏しい。実際に、米国では同種培養表皮の製品化は行われていない。従来の創傷被覆材では治療の困難な深達性皮膚欠損創には、勿論、角化細胞と線維芽細胞の両者を利用した同種培養皮膚が性能的には勝っていると思われるが、製造コストの軽減を考慮すると同種培養皮膚よりも同種培養真皮が実用的と考えられる。以上の分析から本研究で進める同種培養真皮の開発は再生医療としての実現性が最も高いと判断できる。実際に、同種培養真皮に関しては、米国でダーマグラフトとトランスサイトが製品化されている。同種培養真皮の性能は線維芽細胞の産生するサイトカインや細胞外マトリックスが重要であるが、それと同様に線維芽細胞の足場となるマトリックス自身の創傷治癒能力が重要である。国産初の製品開発においては、知的所有権を取得することが最も重要な問題である。細胞を利用する手法に関しては、その多くが公知であり、焦点となるのは細胞の足場と

なるマトリックスの特性と製法である。そこで、本研究で開発中の同種培養真皮については、線維芽細胞の足場となるマトリックスとして治癒促進能力の高い生体材料を使用し、細胞環境に好適な構造体を設計した。同種培養真皮の製法に関する特許を2000年12月7日に申請した（発明の名称：組織再生用基材、移植用材料及びそれらの製法 特願2000-373116）。

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）総合研究報告書
細胞組織工学を応用した培養皮膚の開発に関する研究
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：同種培養真皮の性能は線維芽細胞の産生するサイトカインや細胞外マトリックスが重要であるが、それと同様に線維芽細胞の足場となるマトリックス自身の創傷治癒能力が重要である。国産初の製品開発を目指して、13年度から全国規模の臨床研究を展開した。22の大学病院と4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252例中238例において優れた結果が得られた。

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

A. 研究目的

本研究は、同種（他家）培養真皮の臨床研究を展開してきた黒柳研究班と自家培養表皮の臨床研究を展開してきた熊谷研究班のこれまでの技術的な実績を基盤として新しい治療法の確立を目指す。

B. 研究方法

同種培養真皮はアテロコラーゲンとヒアルロン酸から成る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で、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、これを一時的に-152℃で冷凍保存し、当該医療機関に冷凍状態で供給するシステムを確立している。自家培養表皮および自家分層皮膚移植のための移植床形成や難治性皮膚潰瘍治療などを対象として同種培養真皮の性能評価を行った。HIV, HBV, HCV, HTLV, パルボウイルスについて陰性であることを確認した。

C. 研究結果

聖マリアンナ医科大学形成外科から送られた皮膚小片から線維芽細胞を採取して、大量培養しマスターセルとして液体窒素中で保存した。マスターセルの一部を解冻し大量培養して同種培養真皮を製造し超低温フリーザ内に凍結保存した。順次、全国の

共同研究機関に冷凍状態で輸送して臨床研究を展開した。同種培養真皮は、解冻して臨床使用する。適切な解冻条件下では解冻後も血管内皮成長因子（VEGF）を産生することを基礎研究において確認した。

D. 考察

熱傷や難治性皮膚潰瘍などを対象にして252例に同種培養真皮を適用して238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が大きく影響していることが示唆される。

E. 結論

コラーゲンやヒアルロン酸は、創傷治癒を促進する生体材料であり本研究で開発した同種培養真皮は、材料自身の創傷治癒促進効果と線維芽細胞が産生するVEGFなどのサイトカイン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。

F. 研究発表

1. 論文発表（英文7 和文5）

黒柳ほか：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），日本熱傷学会会誌 29:28-38, 2003.

2. 学会発表 70件

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

平成15年度厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書概要

- (1) 研究費の名称：厚生労働科学研究費補助金
- (2) 研究事業名：ヒトゲノム・再生医療等研究事業
- (3) 研究課題名：組織工学を応用した培養皮膚の実用化に向けた研究
- (4) 国庫補助金精算所要額（円）：51,600,000（うち間接経費 8,600,000）
- (5) 研究期間（西暦）：2004－2005
- (6) 研究年度（西暦）：2004
- (7) 主任研究者名：黒柳能光（北里大学医療衛生学部）
- (8) 分担研究者名：杉原平樹（北海道大学医学部形成外科）、真鍋 求（秋田大学医学部皮膚科）、中島龍夫（慶応義塾大学医学部形成外科）、小川秀興（順天堂大学医学部皮膚科）、熊谷憲夫（聖マリアンナ医科大学形成外科）、鳥飼勝行（横浜市立大学医学部形成外科）、青山 久（愛知医科大学形成外科）、宮地良樹（京都大学医学部皮膚科）、森口隆彦（川崎医科大学形成外科）、古江増隆（九州大学皮膚科）
- (9) 研究目的：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、①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 ②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。創傷治癒の促進を目的とした同種培養真皮と永久生着を目的とした自家培養真皮の多施設臨床研究を展開するためのバンキングシステムを確立する。
- (10) 研究方法：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。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を開発した。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。当センターでは、10 cm x 10 cm 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 (HIB、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。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°C の速度で 4°C から -60°C まで冷却して凍結させ、さらに -152°C 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°C あるいは -152°C のフリーザー内で保存している。臨床使用する際には、 37°C 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。

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ラーゲンの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。

(11) 結果と考察：平成13年4月～平成16年6月までに4000枚の同種培養真皮を全国30の医療機関に供給して350症例の臨床試験を行った。一方、自家培養真皮は4施設に供給して20症例の臨床試験を行った。厚生労働科学再生医療ミレニアムプロジェクトの研究補助金により培養真皮の供給体制は確立された。

(12) 結論：再生医療は、細胞と細胞成長因子と生体材料の3つのキーワードを駆使した新しい治療法である。基本は細胞を利用する医療である。細胞の入手経路は、成体由来の細胞、骨髄間葉系幹細胞、胚性幹細胞である。現段階では、成体由来の細胞のみが、*in vitro* で大量培養できることから、臨床応用が進められている。皮膚、角膜、軟骨が臨床応用されている分野である。中でも皮膚は最も臨床応用が盛んな分野であり、再生医療の実用化のトップランナーとして注目されている。技術的には、完成度が高いが、実際に再生医療を普及させるためには、医療従事者への啓蒙活動が重要である。本研究は、全国規模の多施設臨床研究を通して、実践的な再生医療の普及を最大の課題としている。本研究は培養皮膚の実用化に向けた研究であり、目標の8割程度は達成している。ミレニアムプロジェクト終了後、培養真皮の製造費用をどのように確保していくかが、再生医療の普及の最大の課題である。

Kuroyanagi :[Guest Editorial] Studies on regenerative medicine in Japan. *Artif. Organs*, 28: 11-12, 2004.

Kuroyanagi et al: Establishment of banking system for allogeneic cultured dermal substitute. *Artif. Organs*, 28: 13-21, 2004

平成15年度再生医療ミレニアムプロジェクト研究組織

主任研究者：北里大学人工皮膚研究開発センター 黒柳能光

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

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）、烏飼勝行（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℃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°C 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 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瘢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瘢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瘢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、長期的な瘢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、瘢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、瘢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、瘢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瘢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、瘢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、この際でも瘢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。長期的に瘢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 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℃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 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い出したが、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 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 回日本創傷治癒学会, 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 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°C 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℃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℃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る。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