

Lehmann A, <u>Yamashita S</u> , Ogi T	synthesis in primary human fibroblasts by incorporation of ethynyl deoxyuridine (EdU).				
Akulevich N, Saenko V, Rogounovitch T, Drozd V, Lushnikov E, Ivanov V, Mitsutake N, Kominami R, <u>Yamashita S</u>	Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma.	Endocr Relat Cancer	16(2)	491-503	2009
Drozd VM, Lushchik ML, Polyanskaya ON, Fridman MV, Demidchik YE, Lyshchik AP, Biko J, Reiners C, Shibata Y, Saenko VA, <u>Yamashita S</u>	The usual ultrasonographic features of thyroid cancer are less frequent in small tumors that develop after a long latent period after the Chernobyl radiation release accident.	Thyroid	19(7)	725-734	2009
Matsuse M, Mitsutake N, Nishihara E, Rogounovitch T, Saenko V, Rumyantsev P, Lushnikov E, Suzuki K, Miyauchi A, <u>Yamashita S</u>	Lack of GNAQ hotspot mutation in papillary thyroid carcinomas.	Thyroid	19(8)	921-922	2009
<u>Suzuki K</u> , Kashino G, Kodama S, Watanabe M	Long-term persistence of X-ray-induced genomic instability in quiescent normal human diploid cells	Mutat Res	671(1-2)	33-39	2009
<u>Suzuki K</u> , Kodama S, Watanabe M	Role of Ku80-dependent end-joining in delayed genomic instability in mammalian cells surviving ionizing radiation	Mutat Res	683(1-2)	29-34	2009
Ariyoshi K, <u>Suzuki K</u> , Goto M, Oshimura M, Ishizaki	Introduction of a normal human chromosome 8 corrects abnormal phenotype of Werner syndrome cells	J Radiat Res	50(3)	253-259	2009

K, Watanabe M, Kodama S	immortalized by expressing an hTERT gene				
Kobayashi Y, Funayama T, Hamada N, Sakashita T, Konishi T, Imaseki H, Yasuda K, Hatashita M, Takagi K, Hatori S, Suzuki K, Yamauchi M, <u>Yamashita</u> S, Tomita M, Maeda M, Kobayashi K, Usami N, Wu L	Microbeam irradiation facilities for radiobiology in Japan and China	J Radiat Res	Supple A	29-47	2009
Naruke Y, Nakashima M, <u>Suzuki K</u> , Kondo H, Hayashi T, Soda M, Sekine I	Genomic instability in the epidermis induced by atomic bomb (A-bomb) radiation: a long-lasting health effect in A-bomb survivors	Cancer	115(16)	3782-3790	2009

研究成果の刊行に関する一覧表
(2009年4月1日～2010年3月31日迄)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujikawa K, Kawakami A, Tamai M et al.	High serum cartilage oligomeric matrix protein determines the subset of patients with early-stage rheumatoid arthritis with high serum C-reactive protein, matrix metalloproteinase-3, and MRI-proven bone erosion.	J Rheumatol	36	1126-1129	2009
Tamai M, Kawakami A, Uetani M et al.	A prediction rule for disease outcome in patients with undifferentiated arthritis using magnetic resonance imaging of the wrists and finger joints and serologic autoantibodies.	Arthritis Rheum	61	772-778	2009
上谷雅孝, 他	【早期リウマチ】 早期関節リウマチのMRI 診断.	整形・災害外科	52	1169-1177	2009
上谷雅孝	目でみるシリーズ MRI による関節リウマチの評価	Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology	3	120-125	2009

研究成果の刊行に関する一覧表
(2009年4月1日～2010年3月31日迄)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Masaki Fujioka	A new material for wound treatment.	Luc Teot S.Akita	JOURNAL OF WOUND TECHNOLOGY. No. 4 APRIL	Editions MF	Paris	2009	13-19.
藤岡正樹	人工真皮の応用.	秋田定伯	治療.特集創傷治療 91 (2)	南山堂	東京	2009	289-294
藤岡正樹	頬骨骨折の固定法	平野明喜	形成外科プラクティス顔面骨骨折の治療の実際	光文堂、	東京	2010	in print
Masaki Fujioka	Treatment of Cervical Fistulae After Microsurgical Reconstruction Following Radical Ablation of Head and Neck Cancers.	Frank Columbus	Handbook of Pharyngeal Diseases: Etiology, Diagnosis and Treatment	Nova Science Publishers	NY	2010	in print

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Masaki Fujioka	Complex wounds tend to develop more rapidly in patients receiving hemodialysis because of diabetes mellitus	Hemodial Int.	Apr;13(2):.	168-171	2009
Masaki Fujioka	Immediate radical fang mark ablation may allow treatment of Japanese viper bite without antivenom.	J Venom Anim Toxins incl Trop	Dis. V.15, n.1	168-178	2009.
Yamamoto T, Masaki Fujioka	Evaluation of nutrition in healing of pressure ulcers: is EPUAP nutritional guideline suitable for improvement of wounds?	WOUNDS	21(6)	153-156	2009
Masaki Fujioka	Combination treatment with basic fibroblast growth factor and artificial dermis improves complex wounds caused by collagen diseases with steroid use.	Dermatologic Surgery	35 (9):	1422-1425	2009
Masaki Fujioka	Cervical osteomyelitis and epidural abscess treated with a pectoralis major muscle flap.	Surg Neurol.	72	761-764	2009.
Masaki Fujioka	Revival From Deep Hypothermia After 4 Hours of Cardiac Arrest Without the Use of Extracorporeal Circulation.	J Trauma.	69 (5)	173-175.	2009

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
吉本浩, 平野明喜	褥瘡手術後の管理 と再発予防	波利井清紀監 修、野崎幹弘編 著	殿部・会陰部の 再建と褥瘡の 治療 最近の 進歩	克誠堂出版	東京	2009年	223-231

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年

研究成果の刊行に関する一覧表
 ('2009年4月1日～2010年3月31日迄)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮崎泰司、栗山一孝	骨髄移植（造血幹細胞移植）	花岡炳雄、永倉俊一編集	臨床分子細胞生物学	メディカルレビュー社	東京	2009	255-266
宮崎泰司	I. 急性白血病 1.急性骨髄性白血病	直江知樹編集	現場で役立つ血液腫瘍治療プロトコル集	医薬ジャーナル社	東京	2009	9-28
宮崎泰司	I. 赤血球の疾患 9.WHO分類第4版による骨髄異形成症候群(MDS)の診断	金倉議、木崎昌弘、鈴木律朗、神田善伸編集	2010-2011 EBM 血液疾患の治療	中外医学社	東京	2009	45-49
宮崎泰司、朝長万左男	(血液・造血器疾患／白血球系を主病変とする疾患)慢性骨髄性白血病	小川聡総編集、小澤敬也、祖父江元部門編集	改訂第7版内科学書 Vol.6 血液・造血器疾患 神経疾患	中山書店	東京	2009	122-126
宮崎泰司、栗山一孝	11.急性骨髄性白血病(Acute Myeloid Leukemia:AML)(M2,M3 除く)	吉田彌太郎編集	血液疾患診療ハンドブックー診療の手引きと臨床データ	医薬ジャーナル社	大阪	2009	130-156

			集一				
宮崎泰司	6. 急性骨髄性白血病および関連前駆細胞性腫瘍. 2) 骨髄異形成に関連した変化を有する AML	押味和夫監修, 木崎昌弘, 田丸淳一編集	WHO 分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学	中外医学社	東京	2009	125-128
宮崎泰司	6. 急性骨髄性白血病および関連前駆細胞性腫瘍. 3) 治療関連骨髄性腫瘍	押味和夫監修, 木崎昌弘, 田丸淳一編集	WHO 分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学	中外医学社	東京	2009	128-130
宮崎泰司、朝長万左男	【2 白血球系疾患】 3. 慢性骨髄性白血病	北村聖 総編集	臨床病態学 第一巻 第四版	ヌーヴェルヒロカワ	東京	2010	613-615
宮崎泰司、朝長万左男	【2 白血球系疾患】 4. 慢性増殖性疾患	北村聖 総編集	臨床病態学 第一巻 第四版	ヌーヴェルヒロカワ	東京	2010	615-617
宮崎泰司、朝長万左男	【2 白血球系疾患】 7. 白血球増加症	北村聖 総編集	臨床病態学 第一巻 第四版	ヌーヴェルヒロカワ	東京	2010	619-620
宮崎泰司、朝長万左男	【2 白血球系疾患】 8. 白血球減少症	北村聖 総編集	臨床病態学 第一巻 第四版	ヌーヴェルヒロカワ	東京	2010	620-621
宮崎泰司、朝長万左男	【2 白血球系疾患】 10. 骨髄線維症	北村聖 総編集	臨床病態学 第一巻 第四版	ヌーヴェルヒロカワ	東京	2010	622

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakai M, Miyazaki Y, Matsuo E, Moriuchi Y, Hata T, Fukushima T,	Long-term efficacy of imatinib in a practical	Int J Hematol	89(3)	319-325	2009

Imaizumi Y, Imanishi D, Taguchi J, Iwanaga M, Tsushima H, Inoue Y, Takasaki Y, Tsuchiya T, Komoda M, Ando K, Horio K, Moriwaki Y, Tominaga S, Itonaga H, Nagai K, Tsukasaki K, Tsutsumi C, Sawayama Y, Yamasaki R, Ogawa D, Kawaguchi Y, Ikeda S, Yoshida S, Onimaru Y, Tawara M, Atogami S, Koida S, Joh T, Yamamura M, Matsuo Y, Soda H, Nonaka H, Jinnai I, Kuriyama K, Tomonaga M	setting is correlated with imatinib trough concentration that is influenced by body size: a report by the Nagasaki CML Study Group					
Sakamaki H, Ishizawa K, Taniwaki M, Fujisawa S, Morishima Y, Tobinai K, Okada M, Ando K, Usui N, Miyawaki S, Utsunomiya A, Uoshima N, Nagai T, Naoe T, Motoji T, Jinnai I, Tanimoto M, Miyazaki Y, Ohnishi K, Iida S, Okamoto S, Seriu T, Ohno R	Phase 1/2 clinical study of dasatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia or Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia	Int J Hematol	89(3)	332-341	2009	
Tojo A, Usuki K, Urabe A, Maeda Y, Kobayashi Y, Jinnai I, Ohyashiki K, Nishimura M, Kawaguchi T, Tanaka H, Miyamura K, Miyazaki Y, Hughes T, Branford S, Okamoto S, Ishikawa J, Okada M, Usui N, Tani H, Amagasaki T, Natori H, Naoe T	A Phase I/II study of nilotinib in Japanese patients with imatinib-resistant or -intolerant Ph+ CML or relapsed/refractory Ph+ ALL	Int J Hematol	89(5)	679-688	2009	
宮崎泰司	第IV版 WHO 分類による MDS の分類と診断	血液・腫瘍科	59(1)	13-19	2009	
Doi Y, Sasaki D, Terada C, Mori S, Tsuruda K, Matsuo E, Miyazaki Y, Nagai K, Hasegawa H, Yanagihara K, Yamada Y, Kamihira S	High-resolution melting analysis for a reliable and two-step scanning of mutations	Int J Hematol	90(1)	37-43	2009	

	in the tyrosine kinase domain of the chimerical bcr-abl gene				
Ishikawa Y, Kiyoi H, Tsujimura A, Miyawaki S, Miyazaki Y, Kuriyama K, Tomonaga M, Naoe T	Comprehensive analysis of cooperative gene mutations between class I and class II in de novo acute myeloid leukemia	Eur J Haematol	83(2)	90-98	2009
石川裕一、清井仁、辻村朱音、宮崎泰司、朝長万左男、栗山一孝、宮脇修一、直江知樹	WHO 分類に基づく急性骨髄性白血病における網羅的遺伝子変異の解析	臨床血液	50(8)	597-603	2009
宮崎泰司	JALSG における急性骨髄性白血病治療研究	臨床血液	50(8)	611-616	2009
宮崎泰司、波多智子	輸血後鉄過剰症とその治療	日本医事新報	No.4462	51-55	2009
Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Araseki K, Kuendgen A, Strupp C, Iwanaga M, Miyazaki Y, Hata T, Bessho M, Gattermann N, Tomonaga M	Differences in the distribution of subtypes according to the WHO classification 2008 between Japanese and German patients with Refractory Anemia according to the FAB classification in Myelodysplastic Syndromes	Leukemia Res			in press
Morita Y, Kanamaru A, Miyazaki Y, Imanishi D, Yagasaki F, Tanimoto M, Kuriyama K, Kobayashi T, Imoto S,	Comparative analysis of remission induction therapy for high-risk	Int J Hematol	91(1)	97-103	2010

Ohnishi K, Naoe T, Ohno R	MDS and AML progressed from MDS in the MDS200 study of Japan Adult Leukemia Study Group				
Ohtake, S.,Miyawaki, S., Kiyoi, H., Miyazaki, Y.,Okumura, H., Matsuda, S., Nagai, T., Kishimoto, Y.,Okada, M.,Takahashi, M.,Honada H., Takeuchi, J., Kageyama, S.,Asou, N.,Yagasaki, N., Maeda, Y., Ohnishi, K., Naoe, T, Ohno, R	Randomized Trial of Response-Oriented Individualized versus Fixed Schedule Induction Chemotherapy with Idarubicin and Cytarabine in Adult Acute Myeloid Leukemia: The JALSG AML95 Study	Int J Hematol			in press
Sakamaki, H.,Miyawaki,S.,Ohtake, S.,Ygasaki, F.,Mitani, K.,Matsuda ,S.,Kishimoto,Y.,Miyazaki,Y., Asou, N.,Takahashi, M., Ogawa, Y., Honda, S., Ohno, R	Allogeneic Stem Cell Transplantation versus Chemotherapy as Post-remission Therapy for Intermediate or Poor Risk Adult Acute Myeloid Leukemia: Results of the JALSG AML97 Study	Int J Hematol			in press

研究成果の刊行物・印刷物

Scientific Board



Editor in Chief

Luc Téot

MD, PhD
Hôpital de Lapeyronie
CHU Montpellier,
France.



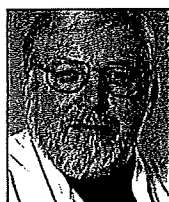
Christine Faure
Pharmacist,
University Hospital,
Montpellier,
France



Sadanori Akita
MD, PhD, Department of
Plastic and Reconstructive
Surgery Graduate School of
Biomedical and Sciences
Nagasaki University
Japan



Jan Apelqvist
MD, PhD
Senior consultant,
Department of Endocrinology
University hospital of Malmö
Sweden Associate professor
Division for Clinical Sciences
University of Lund Sweden.



Finn Gottrup
MD, DMSci
Professor of Surgery,
Copenhagen Wound Healing
Center, Department
of Dermatology, Bispebjerg
University Hospital,
Copenhagen, Denmark



Raj Mani
PhD, FACA, FIPEM, DSc
University of Southampton
Hospital Trust
Southampton, UK.



Hugo Partsch
MD
Professor of Dermatology
Medical University of Vienna
Austria



Mark S. Granick
MD, FACS
Professor of Surgery
Chief of Plastic Surgery
and Program Director
New Jersey Medical
School-UMDNJ
Newark, NJ, USA



Sylvie Meaume
MD,
Head of Department,
Gerontology, Hôpital
Charles Foix, Assistance
Publique Hôpitaux
de Paris,
Ivry-sur-Seine, France



Marco Romanelli
MD, PhD
Wound Healing Research
Unit Department of
Dermatology University
of Pisa, Pisa, Italy



Rosine Van Den Bulck
Nurse specialized in wound
healing and stomacare. Head
nurse, stoma nurse and wound
care specialist at Clinic Edith
Cavell in Brussels Belgium.

Progress in Bioengineered Alternative Tissue

The fourth issue of the *Journal of Wound Technology* deals with bioengineered alternative tissues. This issue features human cadaveric skin (Alloderm®), porcine tendon collagen (Pelnac®), hyaluronic acid (Hyalomatrix®), bovine collagen (Renoskin®, Pelnac®), bovine atelocollagen (Terudermis®), bovine tendon collagen with a glycosaminoglycan (Integra®), autologous skin cells (ReCell®), porcine-derived acellular intestinal submucosa (Oasis®) and other products clinically used as a temporary coverage, with skin grafting in a staged surgery or simultaneously. Since synthetic polymer and nylon fabric are applied to temporary wound coverage in extensive burns, most of the bioengineered alternative tissues are implicated in burns and traumas.

Certain products are used with other devices, growth factors, and allogeneic or autologous cells, and these procedures are considered as being part of tissue regeneration. The articles in this issue include clinical experiences of bilayer artificial dermis for various clinical applications in traumas, post-tumor resections, burns, nevi, and in combination with a growth factor, and demonstrate the remarkable clinical outcomes. Also, basic application of human cadaveric dermal matrix is introduced in detail.

Moreover, as a new integration of bovine collagen with a glycosaminoglycan when a topical negative pressure system is used for chronic wounds and reconstructive cases. The combined use of bioengineered altered tissue and other factors or devices may lead to other clinical findings for better and more efficient wound treatment. One issue to be discussed when bioengineered altered tissues are used is cost-effectiveness. Even though the short-term costs may be higher, the healing of wounds will be faster and of a better quality, and long-term outcomes may be better and ultimately less expensive when these products are appropriately used.

The indications of these products extend beyond surgeons' hands alone: everyone involved in wound care can derive benefits from them.

Sadanori Akita
MD, PhD

Section Editor of the fourth issue of the *Journal of Wound Technology*
Department of Plastic and Reconstructive Surgery
Nagasaki University Hospital
Nagasaki, Japan

AUTHOR GUIDELINES:

www.woundac.com/jwt.htm

WE VALUE YOUR OPINION!

We hope you enjoyed reading this issue of the *Journal of Wound Technology*. We are interested in your opinion and would be happy to receive your comments with a view to addressing our readers' expectations. mbia@fr.oleane.com

S. AKITA

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

Surgical Debridement

Abstract

Surgical debridement is effective in decreasing the total cost of wound care as well as shortening the wound healing period. The principle of surgical debridement and an overview of clinical applications are presented. Even though this method is very common, special attention is paid to each application. Surgical debridement is important not only for surgeons and practitioners but also for all wound specialists in terms of effective and efficient wound management. Novel techniques may be considered instead of conventional surgical debridement, but there is ample scope for surgical debridement to remain a mainstay in first-line therapy.

Key words: type of wounds, bacterial and eschar control, wound coverage

In wound management of acute, chronic or traumatized cases, confirming the tissue viability after thorough debridement leads to faster wound healing if the wound is appropriately covered with skin grafting, flap or artificial dermis. Recent advancement of knowledge of wound bed preparation has also placed importance on surgical sharp debridement. Surgical sharp debridement is essentially not only important for surgeons dealing with wounds but also for those who are involved in other wound specialties in order to understand the concept of appropriate "surgical wound debridement".

Surgical debridement effectively decreases the wound healing time and overall cost of wound care. Necrotized or devitalized tissue may be the source of infectious pathogens such as bacteria, fungi, or other virulent microorganisms; therefore, removal by surgical debridement will provide a rapid means of cleansing and wound bed preparations.

Surgical debridement converts wounds from "chronic" to "acute" states by decreasing the activity of molecules such as MMPs (Matrix MetalloProteinase) and increasing the activity of TIMPs (Tissue Inhibitors of MetalloProteinase).¹

Range of surgical debridement

Surgical debridement should be performed until well-vascularized and healthy tissues are reached. Meticulous and atraumatic techniques to avoid any damage to the vital tissues or organs should be used with careful hemostatic management by ligation or electro-cautery.

Surgical debridement is contraindicated when the vascular supply to the local tissue is insufficient to ensure wound healing or for the patients with sepsis who are not appropriately covered.

Control of bacterial balance

Infected wounds do not progress to normal wound healing. Such wounds remain in the inflammatory phase, during which the wound battles with bacterial burdens. Open or chronic intractable wounds are contaminated with microorganisms. To qualify the bacterial burdens in the tissues, it is often necessary to perform a biopsy to eliminate malignancy and clinically deep- and extensive-enough surgical debridement may be useful in terms of wound cleansing and tissue harvesting for culture.²

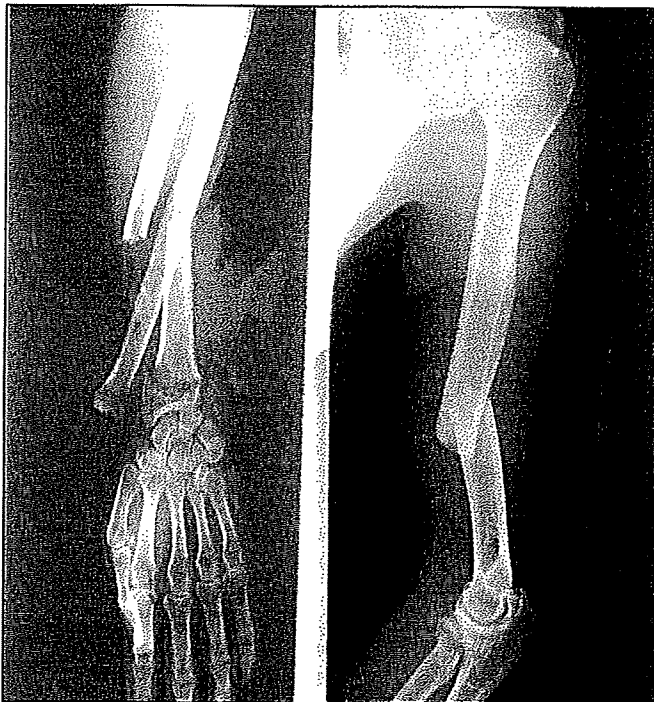


Figure 1. 67-year-old man, accidentally-traumatized arm injury. The X-ray demonstrates both upper- and forearm mid-shaft fractures with the twisted forearm



Figure 2. Radial artery was externally patent in the left panel, while the ulnar artery was severed and thus microscopically anastomosed on the right

Wound coverage and management after surgical debridement

After appropriate surgical debridement of a wound, the wound is optimally covered with autologous tissues such as direct suturing, skin grafting, flaps. However, some wounds will be covered with artificial dermis,³ wound dressings which provide a moist environment, which maintain optimized wound conditions promoting a reduced bacterial load.

Traumatized wound (complex acute wound)

Traumatic wounds are composed of both blunt and penetrating injuries. Usually, blunt trauma causes a larger area of tissue damage. Crush, degloving and avulsion injuries are in this category and the extent of the wounds is not clear all the time. The "zone of injury" may be different from acute diagnosis, because aggressive debridement of non-devitalized tissues,

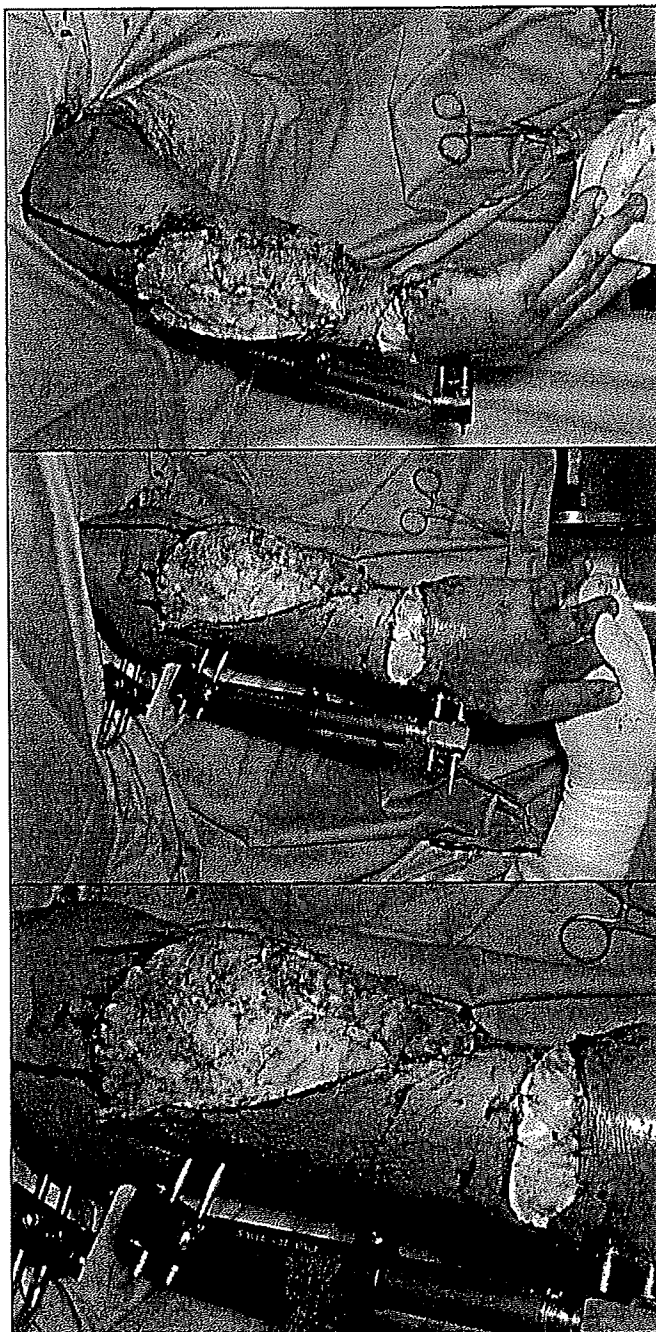


Figure 3. With reduction and external fixation of arms, an artificial dermis was applied after surgical debridement

bacterial control and fluid maintenance may change the wound evaluation (figures).

Penetrating wounds result in soft tissue damage with various degrees of underlying hard and important tissues such as tendons, nerves, bones and vessels.

Animal and human bites require specific management, because often primary closure is not recommended due to potential contamination by microorganisms.

Burn

Unlike other wounds, surgical debridement for burn wounds is usually performed in a two-dimensional, non-linear manner. Wounds associated with deep dermal burns or deep burns often require debridement to be performed down into deep dermis, subcutaneous tissues and fascia depending on the original thermal damage or subsequent damage through burn wound management. It is highly recommended to perform surgical debridement earlier for dorsum of the hands, the feet and articular joints over bony prominences, because wounds in these functional locations are sometimes more serious than trunk or flaccid skin.

Surgical debridement with mesh skin grafting is a gold standard for burn ulcer treatment and this method is also facilitated with a growth factor employed immediately after debridement until wound healing.⁴

Pressure ulcer

Pressure ulcers are well-prepared with off-loading of pressure, shear forces, or other local and systemic standardized management. However, deep tissue infections such as osteomyelitis should be surgically opened and debridement of



Figure 4. In 18 days, there was previously insufficient debridement, further debridement and surgical intervention with skin grafting on the dorsum and flap in the forearm were carried out

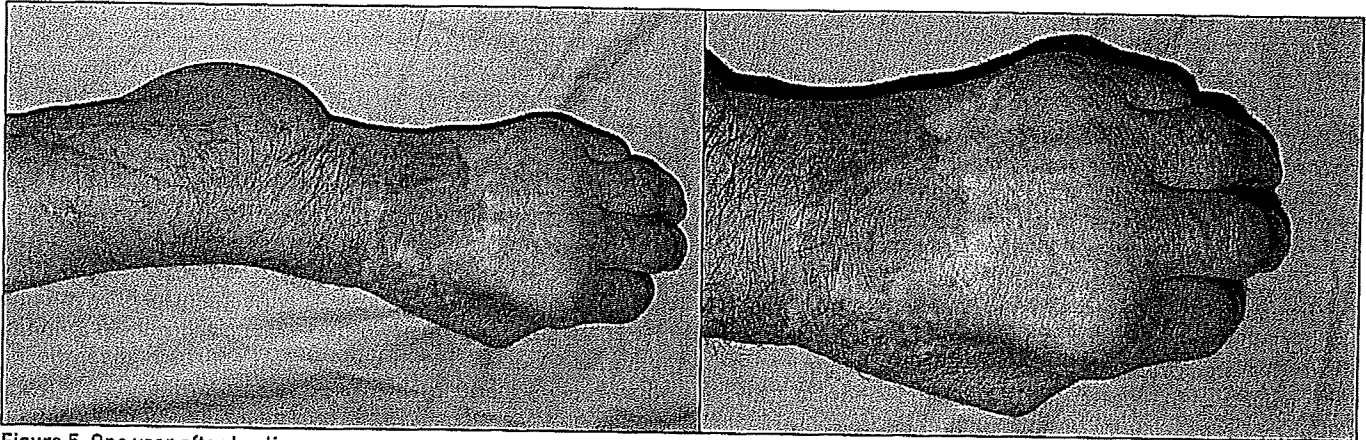


Figure 5. One year after healing

→ the necrotic tissue should be considered. Intractable undermining of the subcutaneous tissues off the wound margins may be facilitated with surgical sharp debridement.⁵

Diabetic foot

Invasive diabetic foot infections lead to subsequent life-threatening as well as limb-threatening conditions. Along with normalizing the hyperglycemia and local care of the diabetic foot infection, surgical debridement should be undertaken if

the pedal areas are infected. X-ray may be helpful for assessment subcutaneous gas or necrotizing fasciitis. Often, such conditions lead to amputations; however, it is considered best to avoid amputation to the greatest extent possible for quality of life and mortality reasons.⁶ Obviously, necrotized tissue and suspicious tissue are sometimes debrided and post-operative irrigation and drainage are also considered during surgical debridement if debridement cannot be completely performed. ■

References

1. Schultz GS, Sibbald RG, Falanga V, Ayello EA, Dowsett C, Harding K, Romanelli M, Stacey MC, Teot L, Vanscheidt W. Wound bed preparation: a systemic approach to wound management. *Wound Repair Regen.* 11: S1-28, 2003.
2. Robson MC, Stenberg BD, Heggers JP. Wound healing alterations caused by infection. *Clin Plast Surg.* 17: 485-492, 1990.
3. Akita S, Tanaka K, Hirano A. Lower extremity reconstruction after necrotizing fasciitis and necrotic skin lesions using a porcine-derived skin substitute. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 59: 759-763, 2006.
4. Akita S, Akino K, Imaizumi T, Hirano A. A basic fibroblast growth factor improved the quality of skin grafting in burn patients. *Burns.* 31: 855-858, 2005.
5. Sorensen JL, Jorgensen B, Gottrup F. Surgical treatment of pressure ulcers. *Am J Surg.* 188: S42-S51, 2004.
6. Jeffcoate WJ, Chipchase SY, Ince P, Game FL. Assessing the outcome of the management of diabetic foot ulcers using ulcer-related and person-related measures. *Diabetes Care.* 29: 1784-1787, 2006.

綜合臨牀 第58巻第1号
(平成21年1月1日発行 別刷)

皮膚の再生医療の実際と課題

Practical skin regeneration and its shortcoming

秋田 定伯
AKITA Sadanori

永 井 書 店

皮膚の再生医療の実際と課題

Practical skin regeneration and its shortcoming



特集

秋田 定伯
AKITA Sadanori

Regenerative Medicine—
期待される21世紀の新しい医療

Key words 骨髄由来細胞 人工真皮 皮膚付属器

骨髄由来幹細胞が組織修復、心筋¹⁾、血管²⁾、受傷後の骨、腱、軟骨³⁾、半月板、皮膚再生⁴⁾⁵⁾に参与する。最近の研究では、骨髄由来細胞の多くは皮膚の細胞になると報告されている⁶⁾⁷⁾。正常皮膚には骨髄由来細胞があり、宿主免疫と創傷治癒を含めた炎症過程にすると理解されている。一方では、骨髄由来細胞は皮膚を構成するケラチノサイトや線維芽細胞の生成に貢献するとの報告もある^{6)~8)}。白血球の凝集と同様に、骨髄由来幹細胞は、骨髄前駆細胞を含めて皮膚などの障害を受けた部位に集合可能である。骨髄由来細胞の組織修復/再生について検討する。

骨髄由来幹細胞による 組織修復/再生

骨髄幹細胞には2系統あって、造血幹細胞(HSC)と間葉系幹細胞(MSC)がある。成人骨髄由来HSCは造血系の全部に参与し、赤血球、血小板、白血球系列の幹細胞と考えられてきた。興味深いことには、HSCが肝細胞⁹⁾、血管内皮細胞、平滑筋細胞、心筋細胞¹⁾などの非造血系の細胞産生に参与するとの報告もある。骨髄由来間葉系幹細胞は自己再生し、非造血系組織の前駆細胞である。骨髄内の細胞比率はおそらく有核細胞のなかでは0.001~0.01%にすぎず、HSCと比較しても1/10未満である。

骨髄由来幹細胞の損傷部位への定着

骨髄由来幹細胞が骨髄から出て行き、血流内を通過して損傷部位に定着可能であることが示されてきた²⁾。

骨髄由来血管内皮前駆細胞(EPC)は、HSC系列に加えられているものの、骨髄から末梢血に移動可能であり¹⁰⁾、サイトカインで動員可能である。循環血中のEPCは成人末梢血からCD34+細胞として分離、培養・増幅され体外で血管内皮細胞に転換された。この発見が、胎生期において中胚葉系細胞分化のみが血管芽細胞に分化し、さらに血管内皮細胞に分化する概念を変えた。循環血中のEPCは正常成人血管内皮細胞を一定の割合で構成している²⁾。

またEPCは創傷治癒に参与すると考えられて

いる。

骨髄由来間葉系幹細胞の凝集・定着能についてはさまざまな研究で検討されているものの、間葉系幹細胞(MSC)特異的マーカーがないために血中または組織内の内因性MSCを追跡不可能である。体外増幅後の骨髄由来MSCを、致死量の放射線照射後のヒヒの全身性に注入すると細胞の皮膚、小腸、肝、肺、胸腺、腎などの多臓器での長期定着を認めている。骨髄間葉系幹細胞の増殖能、分化能が強力であり、皮膚創傷への定着と治癒促進/再生を誘導することが推察される。



骨髄由来細胞と再生皮膚細胞

骨髄由来細胞は皮膚の細胞の大きな割合を占める⁶⁾⁷⁾¹¹⁾。C57BL マウス骨髄を刺激緑色蛍光蛋白(EGFP)トランスジェニックマウス骨髄由来幹細胞(BMSC)で再建したキメラモデルが使用されており⁶⁾、多くのEGFP陽性骨髄由来細胞が正常皮膚に認められ、創傷治癒過程に積極的に関与していることが分かった。さらに正常皮膚のEGFP陽性骨髄由来細胞のうち1/3がCD45陰性であり、紡錘形真皮線維芽細胞群のおよそ15~20%を占める。

マウス皮膚硬化モデルにGFP陽性骨髄由来細胞を全身性に注入すると、正常皮膚細胞のうち8.7%がGFP陽性細胞であり、GFP陽性骨髄由来細胞は線維硬化部位でのI型コラーゲン発現の線維芽細胞様細胞に重要な割合を占め、ガン移植における誘導線維硬化59.7%、切開誘導線維化の32.2%を占めており、そのうちCD45陽性細胞も含まれる¹¹⁾。

この結果から骨髄由来細胞は炎症細胞制御に関与するばかりでなく、皮膚のとくに創傷治癒の線維芽細胞に関与すると思われる。さらに、骨髄由来細胞はケラチノサイト産生にも関連するとの報告もあり、EGFP再構築マウスモデルを用いてEGFP陽性骨髄由来細胞は表皮、毛包周辺に多数認められている⁶⁾⁷⁾。他にも致死量放射線照射後

のC57BLマウスにおいて(体毛は黒色)Balb/C白色体表由来Flk陽性骨髄由来幹細胞を移植すると、マウスは白色毛を再生し、白色体毛部位皮膚を用いた免疫組織、RT-PCR法、細胞培養では細胞はドナー由来であった⁷⁾。



骨髄由来幹細胞の皮膚構造と創傷治癒への関与

これまでに骨髄由来幹細胞は皮膚修復/再生に関与すると示唆されてきた^{5)~8)12)}。骨髄由来細胞はいくつかの研究で皮膚表皮に見つけられている。骨髄由来表皮細胞は表皮内で増殖性を有し、幹細胞ニッチであるCD34陽性毛包膨大部に局在する傾向があることが知られている⁸⁾。さらに、表皮への骨髄細胞の動員は損傷皮膚で有意に多く認められ、骨髄由来ケラチノサイトは生体内で表皮再生が可能なコロニーを形成する。このコロニー形成能力は*in vitro*でも再現可能である。多くの研究で、表皮での骨髄由来ケラチノサイトにとって分化能が重要であると結論づけている¹²⁾¹³⁾。

Cre/loxシステム、 β ガラクトシダーゼを用いたEGFP発現トランスジェニックマウスモデルでは、間葉系幹細胞を含めた骨髄由来細胞は皮膚表皮細胞、肝、肺に細胞融合なしに分化可能であった¹³⁾。間葉系幹細胞からケラチノサイトへの分化誘導は、*in vitro*の骨髄由来間葉系幹細胞と気道上皮の共培養で表皮形質を示し、上皮系の単一培養として上皮系ケラチン発現を認める¹⁴⁾。

培養EPCは血管内皮増殖因子(VEGF)、肝細胞増殖因子、G-CSF、GM-CSF、血小板由来増殖因子-B(PDGF-B)など増殖因子を放出しており、内因性の血管内皮細胞と心筋細胞の保護効果を示している。骨髄由来間葉系幹細胞は培養するとVEGF、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)、IL-6、胎盤増殖因子(PIGF)、単核球遊走因子を産生すると報告されている。

骨髄由来間葉系幹細胞のうち皮膚に存在するのは表皮の発生を調整する。真皮におけるケラチ

ノサイトと間葉系細胞の相互連絡交流が、皮膚の構造維持に不可欠であると報告されている。ヒト間葉系幹細胞は隔壁二重培養にて、血管内皮細胞や真皮線維芽細胞と比較して、ケラチノサイトとの培養にて有意に走化遊走性を示した¹⁵⁾。重症感染症、重篤な外傷などによるこの連絡網の遮断が、創傷治癒過程における上皮化遅延を引き起こし、高頻度に線維硬化像を認めることになる。骨髄由来間葉系幹細胞、皮下脂肪前駆細胞、真皮線維芽細胞はおおの個別に表皮再生時のケラチノサイトに影響すると報告されている。皮膚再生モデルにおいて、ケラチノサイトと間葉系細胞を共培養するとケラチノサイトの生存率が向上し増殖促進することが分かった。骨髄由来間葉系幹細胞はとくに表皮の稜線構造に関与しており IL-1/c-Jun 系情報伝達とは異なる経路を通じている。またここでも骨髄由来間葉系幹細胞の特異的マーカーが欠けており、皮膚での量、生物学的意義は不明である。

骨髄の幹細胞には、他にどのような細胞が皮膚を構成するのか不明である。理論的には循環血中の EPC は、皮膚の血管内皮細胞に関与するであろうと思われるが、EGFP 陽性骨髄由来細胞では血管構造を作ることができていない。EPC は虚血組織の血管新生に参加することが分かっており²⁾、将来的には EGFP 陽性骨髄細胞の創傷治癒での新生血管への役割について、血管内皮特異的マーカーを用いて検討すべきである。



創傷治癒における骨髄由来線維細胞

骨髄由来幹細胞 (HSC, MSC, EPC を含む) は骨髄内細胞の有核細胞のなかで 1% 未満であり、末梢血中有核細胞においてはさらにその数は少ない。この少ない数を考慮して、骨髄由来幹細胞が他の細胞に分化する前に急速に増殖しない限り、創傷内で EGFP 陽性骨髄由来細胞の大部分を占めるとは考えられにくい⁶⁾¹¹⁾。

線維細胞は新たに発見された白血球分画であ

り、末梢循環血中において炎症細胞として、さらに受傷部位に瞬時に侵入する。線維細胞はマウスの血中から移植後の創傷チャンバーへ急速かつ特異的な凝集細胞として同定された¹⁶⁾。線維細胞は末梢血中の 0.1~0.5% を占めており、単核球と線維芽細胞様特徴を持ち I 型コラーゲン、ファイブロネクチン、CD11b, CD34, CD45 を発現するが、CD14, CD3, CD10 は発現しない。末梢血中、創傷部位、リモデリング組織中に存在する¹⁶⁾。

線維細胞は骨髄を起源とし、創傷部位での筋線維芽細胞への関連が示唆されている。細胞外マトリクスの分泌、抗原呈示、サイトカイン産生、血管新生、創閉鎖などのさまざまな機序に関与すると考えられている¹⁶⁾¹⁷⁾。例として、線維細胞はケモカイン受容体である CCR5, CCR7, システイン-X-アミノ酸-システイン (CXCR4) を通じて損傷部位に急激に侵入し、I, III 型コラーゲン、ファイブロネクチンを産生し創傷治癒に関与する¹⁶⁾¹⁷⁾。

線維細胞は CD4+, CD8+ T リンパ細胞に抗原呈示し、遊走因子を分泌しつつ免疫反応を刺激する。さらに線維細胞は血管新生を *in vitro*, *in vivo* で誘導するとされている¹⁸⁾。また、 α 平滑筋細胞を介して創収縮に関与する¹⁷⁾。熱傷患者から I 型コラーゲンおよび CD34 陽性細胞を以前、末梢血単核細胞 (PBMC) から線維細胞を定量したところ、熱傷患者では、健常人では 0.5% 未満であるのに対して末梢血単核細胞のうち 10% 近くまで増加した。線維細胞は分化過程のなかで徐々に CD34 発現を失っていくので¹⁷⁾、創傷部位における線維細胞の正確な定量同定のためには、安定した線維細胞マーカーが必要である。

熱傷患者と健常人由来の線維細胞培養において、線維細胞マーカーの白血球特異タンパク (Leukocyte-specific protein 1, LSP-1) を二次元電気泳動と分光分析特異解析にて同定した¹⁹⁾。LSP-1 と I 型コラーゲン C 末端抗体による二重染色にて、培養細胞と組織から線維細胞を検出した。さらに最近の研究で、熱傷患者由来の線維細胞が

真皮線維芽細胞の機能を調整することが分かった。これらデータから、骨髄由来線維細胞は皮膚において周囲細胞と相互作用を有し、正常および肥厚性瘢痕などの異常創傷治癒に重要な役割を有すると考えられる。組織修復・リモデリングにおける骨髄由来間葉系幹細胞と線維細胞は相反的である。循環血中の線維細胞はブレオマイシン誘導性の肺炎症部位に定着し、線維芽細胞に分化し肺線維症の病態となる。対照的に全身性の骨髄間葉系幹細胞の投与により、ブレオマイシン誘導性肺炎症とコラーゲン沈着を抑制する。



皮膚由来間葉系幹細胞と骨髄由来間葉系幹細胞を模倣する他の組織

“間葉”は胎児の組織を包み込む疎な結合織であり、主に中胚葉からなり成人の大部分の結合織細胞を構成する。ヒト頭皮由来間葉系幹細胞様細胞は、ヒト間葉系幹細胞培地(Dulbecco's modified Eagle medium + 10% FBS)へEGF および bFGF 補充の後、限界希釈法でクローン細胞が単離可能となった。培養頭皮間葉系幹細胞は表面膜抗原のCD90, SH2, SH4, CD166, CD44, CD49d-e ヒト白血球抗原 I を発現し、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞と近似している。

非骨髄由来間葉系幹細胞起源のものは、単離方法の標準化や規格培地はないもののすべて骨髄由来間葉系幹細胞と同様の膜表面マーカーを発現している²⁰⁾。骨髄由来間葉系幹細胞と他の組織由来間葉系幹細胞の相似性で問題となるものは、骨髄の間葉系幹細胞は成人臓器のあらゆる間葉系組織の修復と再生に構造上関与する。間葉系幹細胞は骨髄に定着し、全身的注入で多くの間葉系組織が出現する。さらに重要なことは間葉系幹細胞様接着細胞として、骨髄由来間葉系幹細胞と同等の膜表面タンパク発現と分化能を有する細胞が臍帯血、胎児血中、G-CSF または GM-CSF 投与後の成人血中から分離されている。これらは、一定の環境下に正常胎児あるいは成人血中に循環間葉

系幹細胞の存在を示唆するものである。



骨髄由来幹細胞と人工皮膚

早期切除と広範囲の皮膚欠損、熱傷部位の被覆は、救命と肥厚性瘢痕発生を減少化させうる。自家皮膚移植の疼痛、瘢痕、感染、さらにドナー部位の治癒の問題から人工真皮が開発されてきた。人工真皮のなかには、豚皮を使用した一過性のもの、ウシを成分とするもの、合成膜、同種皮膚、理想的永久人工真皮などがある。細胞培養技術の発達と人工物技術の発展により、ケラチノサイトおよび線維芽細胞を含めた自家または同種人工真皮が開発されてきた。

同種由来のフィブリンや異種由来のコラーゲン、ヒアルロン酸マトリクスなども含まれる。理想的には人工皮膚には細胞外マトリクスの合成、リモデリング、ケラチノサイトの増殖と分化が可能な表皮を含むことが必要である。人工表皮培養は生検からの自家表皮により、培養表皮を含み広範囲欠損を永久に被覆可能となる。レシピエント部位からの真皮層への急速な血管開通が、移植表皮の生存には最も重要である。人工真皮の条件を改善するために種々のサイトカインを組み込んだりしたもの、ほとんど成功していない²¹⁾。

骨髄由来幹細胞の皮膚再生臨床応用が検討されている。骨髄由来幹細胞は多くの場合、周辺条件によって分化系列が決まることから、骨髄幹細胞と分化系列を含んだ細胞を混合した骨髄由来細胞を用いて実験した⁴⁾。GFP 陽性トランスジェニックマウス由来骨髄細胞は、胎生期17.5日のマウス胎児皮膚細胞との混合によりヌードマウス背部皮膚欠損部位に移植すると、3週間以内に皮膚と毛が完全に再生した。GFP 陽性細胞は表皮、毛包、脂腺および真皮に認められた。細胞局在と形態を免疫組織法により確認すると骨髄由来細胞が表皮ケラチノサイト、脂腺、毛包表皮、樹状細胞、血管内皮細胞に分化した⁴⁾。骨髄由来細胞の移植の際には病変部位は上皮化しておらず、シリコン