

チャンバーの除去に伴って、皮膚周辺からの急速な上皮化を認めたことによりニッシュ細胞、他の皮膚細胞が骨髄由来幹細胞が生存して分化するためには必要と考えられた。本研究では骨髄のどの幹細胞が皮膚を再生したのかは不明であった⁴⁾。ヒト骨髄由来間葉系幹細胞とブタ由来人工真皮を用いてヌードラット全層欠損皮膚に移植し、創傷治癒の促進とラットと交差発現しないヒト由来パンサイトケラチンが移植表皮に認められ、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞がケラチノサイトに分化したと推測される⁵⁾。とくに骨髄由来間葉系幹細胞は *in vitro* でも表皮、皮膚付属器に一定条件下で分化可能である。

結 論

血液は皮膚に可溶性成分のみをもたらすのでは

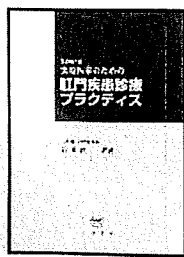
なく細胞も供給し、動的に皮膚または他の組織を治癒させうる。骨髄由来細胞は炎症細胞や真皮内での間葉系細胞に関与するばかりでなく、表皮ケラチノサイトにも関与する。多くの問題は残っているものの、骨髄由来細胞が皮膚へ分化誘導している。正常皮膚の構成に骨髄由来細胞が必要か、どの骨髄由来細胞または骨髄由来幹細胞にそのような働きがあるのかは不明である。骨髄由来幹細胞の創傷治癒における有用性はさらに研究が必要である。骨髄由来間葉系幹細胞がケラチノサイトに分化し上皮化し創閉鎖となるのか検討を要する。創傷治癒、リモデリング、皮膚移植起源における骨髄由来間葉系幹細胞と血管内皮前駆細胞の役割はさらなる検討を要する。

これらの研究から、皮膚の恒常性維持、創傷治癒過程理解、皮膚欠損・慢性創傷への新規治療方法の開発が将来囑望されている。

文 献

- 1) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al : Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410 : 701-705, 2001.
- 2) Rafii S, Lyden D : Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 9 : 702-712, 2003.
- 3) Noel D, Djouad F, Jorgense C : Regenerative medicine through mesenchymal stem cells for bone and cartilage repair. *Curr Opin Investig Drugs* 3 : 1000-1004, 2002.
- 4) Kataoka K, Medina RJ, Kageyama T, et al : Participation of adult mouse bone marrow cells in reconstitution of skin. *Am J Pathol* 163 : 1227-1231, 2003.
- 5) Nakagawa H, Akita S, Fukui M, et al : Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing. *Br J Dermatol* 153 : 29-36, 2005.
- 6) Fathke C, Wilson L, Hutter J, et al : Contribution of bone marrow-derived cells to skin : collagen deposition and wound repair. *Stem Cells* 22 : 812-822, 2004.
- 7) Deng W, Han Q, Liao L, et al : Engrafted bone marrow-derived flk-(1+) mesenchymal stem cells regenerate skin tissue. *Tissue Eng* 11 : 110-119, 2005.
- 8) Brittan M, Braun KM, Reynolds LE, et al : Bone marrow cells engraft within the epidermis and proliferate *in vivo* with no evidence of cell fusion. *J Pathol* 205 : 1-13, 2005.
- 9) Lagasse E, Connors H, Al Dhalimy M, et al : Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 6 : 1229-1234, 2000.
- 10) Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al : Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275 : 964-967, 1997.
- 11) Ishii G, Sangai T, Sugiyama K, et al : *In vivo* characterization of bone marrow-derived fibroblasts recruited into fibrotic lesions. *Stem Cells* 23 : 699-706, 2005.
- 12) Borue X, Lee S, Grove J, et al : Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. *Am J Pathol* 165 : 1767-1772, 2004.
- 13) Harris RG, Herzog EL, Bruscia EM, et al : Lack of a fusion requirement for development of bone marrow-derived epithelia. *Science* 305 : 90-93, 2004.
- 14) Wang G, Bunnell BA, Painter RG, et al : Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells : potential therapy for cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 186-191, 2005.

- 15) Akino K, Minoda T, Akita S : Early cellular changes of human mesenchymal stem cells and their interaction with other cell. Wound Repair Regen 13 : 434-440, 2005.
- 16) Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, et al : Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. Mol Med 1 : 71-81, 1994.
- 17) Abe R, Donnelly SC, Peng T, et al : Peripheral blood fibrocytes : differentiation pathway and migration to wound sites. J Immunol 166 : 7556-7562, 2001.
- 18) Hartlapp I, Abe R, Saeed R, et al : Fibrocytes induce an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and promote angiogenesis in vivo. FASEB J 15 : 2215-2224, 2001.
- 19) Yang L, Scott PG, Dodd C, et al : Identification of fibrocytes in postburn hypertrophic scar. Wound Repair Regen 13 : 398-404, 2005.
- 20) Jeong JA, Hong SH, Gang EJ, et al : Differential gene expression profiling of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells by DNA microarray. Stem Cells 23 : 584-593, 2005.
- 21) Sahota PS, Burn JL, Brown NJ, et al : Approaches to improve angiogenesis in tissue-engineered skin. Wound Repair Regen 12 : 635-642, 2004.



実地医家のための

肛門疾患診療プラクティス

改訂第2版

永井書店

編著 岩垂 純一 岩垂純一診療所 所長

定価 10,500円

(本体 10,000円+税5%)

B5判・250頁・図179・カラー122・表39

ISBN 978-4-8159-1783-8

肛門疾患の専門医だけでなく、幅広く専門医を目指す若手医師、肛門疾患に馴染みのない一般臨床医を対象に、基本的理解とより実際的な内容で明日からの日常診療に役立つよう企画された実践書。今回の改訂では、初版刊行以来7年の間に肛門疾患の治療に登場したさまざまな新しい試みを取り入れて、up to dateな治療内容とした。ぜひ一読してほしい良書である。

昨日の常識

創(キズ)は乾燥させ消毒薬をつける

今日の常識

創傷管理の基本は湿潤環境で、創は生理的食塩水などでよく洗浄する

長崎大学病院形成外科 講師 秋田定伯

治療(J.Therap.)別刷

Vol.91, No.12 <2009.12>

株式会社 南山堂

昨日の常識

創(キズ)は乾燥させ消毒薬をつける

今日の常識

創傷管理の基本は湿潤環境で、創は生理的食塩水などでよく洗浄する

長崎大学病院形成外科 講師 秋田定伯

1 昨日の常識：創(キズ)は乾燥させ消毒薬をつける

ケガなどの外傷を受傷した際のプライマリ・ケアとして、前世紀までは消毒薬を塗布し、滲出液を認める場合はなるべく乾燥させるといった考えが、一般のみならず医療機関においても一部実践されていた時期がある。擦過創・熱傷創などにおける「乾燥」療法は、過剰な滲出液を何らかの方法で創周囲に含浸させないこと、さらに「治癒」した場合には滲出液は結果として認められないため、正しい創傷治癒機転の理解をスキップして、結果としての「乾燥」状態を求めていたに過ぎない。さらに滲出液の効能・役割を正しく理解していなかったため、「乾燥」により滲出液を抑えていたと考えられる。また、皮膚が創傷によりバリア機能を失った場合に、なるべく「消毒」によって、感染源となり得る外界の病原菌を制御することが創傷管理の一義的な目標であった時期でもあった。つまり、外界との皮膚バリアが消失した場合に、痂皮(かさぶた)の形成によってであっても、外界との連絡を遮断し、感染源になる可能性がある滲出液の体内からの漏出を防ぐ方法を選択していたわけである。当時、創は痛みを伴い、治癒課程で痂皮形成の場合が多く、さらに各種の創の程度による治癒期間などの基礎的知識の普及が乏しかったため、治癒までの時期もまちまちであった。結果として、創は乾燥させ、痂皮を形成し、痛みを随伴し局所感染していたのであり、今日の創管理とは全く正反対の理解となっていた。また、消毒薬

に対する「信奉」も厚く、皮膚常在菌でさえも起炎菌であるかのごとく、徹底的に「消毒」を毎日の包交で継続していたわけで、結果としては消毒薬による化学的刺激、あるいは消毒薬の塗布、乾燥性の包交材料を毎日交換することによる機械的刺激により、辺縁からの上皮化も妨げていた可能性がある。さらに、結果として遷延した治癒は痂痕(キズアト)を悪化させてきた可能性もある。

すでに1960年代には諸家の報告により、湿潤療法の有用性が欧米で報告されていたにもかかわらず、わが国における本理論の実践の開始はさらに20年程度遅れており、20世紀末まで時間を要している。理由は種々あると推察されるが、創傷を専門的に診察・治療する専門家が少なかったこと、創傷治癒に対する基礎的研究関心が社会全体に乏しかったことがあげられる。プライマリ・ケアの常識は影響力のある先達、オピニオンリーダーの影響を受けることが多いが、手術における術野の消毒と創傷管理における消毒の混同¹⁾、さらに感染していない滲出液の役割、上皮化メカニズムの理解欠如などと相まって、創は乾燥させ消毒薬をつけるとした「常識」が形成されてきた。

2 今日の常識：創管理の基本は湿潤環境で、創は生理的食塩水などでよく洗浄する

今日では、創傷治癒メカニズムの総合的理解と創傷管理技術・材料の向上に伴い、湿潤環境が創傷治癒に最適であることが実証されてきた。ま

た、消毒薬の局所における頻回の使用は、湿潤療法による創管理を基本とした場合は毎日必要ではなく、化学的・機械的刺激が創傷治癒に不利益であることが数多く報告されてきているばかりか、局所の消毒薬の効果は一過性のものであり、細菌をはじめとする病原体の制御にはあまり効果がないことが判明している。創表面には細菌コロニーがあって、一般には生理的食塩水など創面に低刺激な液体による洗浄により十分な創管理が可能であること、また、局所感染をきたした場合でも現行の非固着性・透過性・半透過性創傷被覆材による管理で、臨床経過観察により迅速な対応が可能であることがわかっている。

滲出液は細胞にとって必須の「培地」であり、創周辺からの遊走、また、湿潤環境を保ちつつ周辺の皮膚組織には浸軟しない工夫も施されており、創傷の湿潤環境の維持とともに周辺の皮膚への配慮も改善されつつある。

また、創傷治癒メカニズムの時間的・空間的な正しい理解により、多くの時相でオーバーラップはあるものの、時相ごとの細胞・液性成分の出現時期も理解されるようになって、滲出液の役割が大きく注目されるようになった。細胞にとって、創内で生存・増殖し、さらに増殖因子、サイトカイン、リンホカインなどの情報伝達物質の発現放

出が、正しい時期に正しく実施されるためには、適切な滲出液の量と質が維持されなければいけない。一方、細胞増殖因子を外部から局所使用する場合、乾燥・壊死部位での効果は認められておらず、受容体を有する細胞の活性維持が必須であり²⁾、この方面からも湿潤環境の意義は明らかである。

さらに、消毒と湿潤環境を同時に充足する創傷被覆材として、抗菌薬含有創傷被覆材も数多く開発されており³⁾、慢性創傷のみならず熱傷創などにおける創管理材料として広く用いられつつある。わが国においても、湿潤環境を提供する創傷被覆材が多く開発・臨床応用されているが、近年では湿潤環境を有する家庭用絆創膏も普及しつつあり、創傷に対する湿潤環境への理解が普及しつつある。

湿潤環境を正しく理解し、実践するには創傷治癒を正しく理解する必要があるが、逆に創傷治癒メカニズムの創傷治癒までの経過を理解し、その経過を正しく辿ることができれば、正しい湿潤環境の実践となると考えられる。

最後に、今後も創傷に関する新機軸・新展開は期待されるが、少なくとも1960年代初期に提唱され、実証された本理論は、50年の臨床における検証を経て正しいことが証明されてきている。

参考文献

- 1) Veiga DF, et al : Randomized controlled trial of the effectiveness of chlorhexidine showers before elective plastic surgical procedures. *Infect Control Hosp epidemiol.* 30 : 77-19, 2009.
- 2) Akita S, et al : A basic fibroblast growth factor accelerates and improves 2nd degree burn wound healing. *Wound Repair Regen.* 16 : 635-641, 2008.
- 3) Gallant-Behm CL, et al : Comparison of in vitro disc diffusion and time kill-kinetic assays for the evaluation of antimicrobial wound dressing efficacy. *Wound Repair Regen.* 13 : 412-421, 2005.



◆特集／口唇裂二次修正術

2. 鼻翼基部 顎裂骨移植の有用性

秋田定伯^{*1} 平野明喜^{*2}

Key Words : 顎裂骨移植 (alveolar bone grafting), 片側例と両側例 (unilateral and bilateral), 歯槽粘骨膜法 (gingivo-periosteoplasty), 二次性骨移植 (secondary bone grafting), 腸骨ドナー (iliac crest as a donor site)

Abstract 主に犬歯永久歯の萌出前に実施される二次性顎裂骨移植は今や確立された手術手技であるが、良好な歯槽骨の再建と、犬歯誘導、上顎形態の改善のために更に改善する余地がある。一般的には術前歯科矯正の管理のもと、血行が十分保たれた粘骨膜弁により、鼻腔、口蓋側の粘骨膜弁にてポケット作成し、密閉し十分量の海綿骨でパッキングする方法を用いる。

一方、唇裂修正時における歯槽粘骨膜弁法を用いた顎裂部の再建が長期的に有用と報告するものや、二次性骨移植術の方が優れた長期成績であるとする報告もあり未だに議論は尽きない。また、片側例と両側例では、顎裂治療法は異なる場合があり、更に今後の検討課題である。ドナーに関しては腸骨部からの海綿骨採骨が一般的ではあるものの、腸骨骨髓幹細胞または、遺伝子組み換え骨形成因子を用いた細胞増殖因子により、腸骨ドナー部の疼痛を完全回避する方法なども提案されている。

はじめに

顎裂骨移植は、可能な限り対称的な上顎歯列形態を得ること、口蓋鼻瘻の閉鎖、歯列萌出の補助と維持、上顎成長の促進、尾翼基部および上口唇部の形態改善を目的として実施され、近年確立されつつあるが、未だに議論を残す術式、治療法もあり、また欠損歯の場合の対処法など新たな治療戦略も提案されつつある。本稿では、主に二次性顎裂骨移植を中心に、筆者の実際の手術方法を含めて供覧する。

歴史の変遷

顎裂部に対する骨移植の概念は1900年代に既に始まっていたとされるが、実際には1955年に入って、ヨーロッパの唇口蓋裂センターによる幼児期および学童後期における骨移植の成功から本格的な広まりをみせた。その後術式、周術期の矯

正管理、骨移植時期など数多くの報告がある。特に、後述する手術の時期についての変遷はヨーロッパにおいて過去50数年で大きく変動しており、一次性顎裂骨移植術(通常2歳未満での手術)と永久歯犬歯萌出直前の二次性骨移植とに分かれる。当初は一次性骨移植術が徐々に拡大しつつあったものの、60年代~70年代にかけて上顎劣成長、交差咬合になる危険性、好ましくない上顎骨形態への危惧、歯牙の未萌出化、歯根動揺などに対して、警鐘が鳴らされた。一方アメリカでは1980年代シカゴやインディアナポリスのグループによって一次性顎裂骨移植術が開始されており、歯科矯正および口唇初回形成術後で口蓋形成術前時期に口唇側からの肋骨移植を粘骨膜小切開から移植し、欠損架橋部位と鼻腔部には移植していない¹⁾。

手術の時期・歯牙萌出・顔面成長・
術前後評価方法

上顎発育と歯牙年齢は顎裂骨移植時期を考慮した場合、最も重要な因子と考えられている。一般に上顎の成長は8歳まで持続するが上顎犬歯の萌

^{*1} Sadanori AKITA, 〒852-8501 長崎市坂本1-7-1 長崎大学医学部形成外科, 講師

^{*2} Akiyoshi HIRANO, 同, 教授

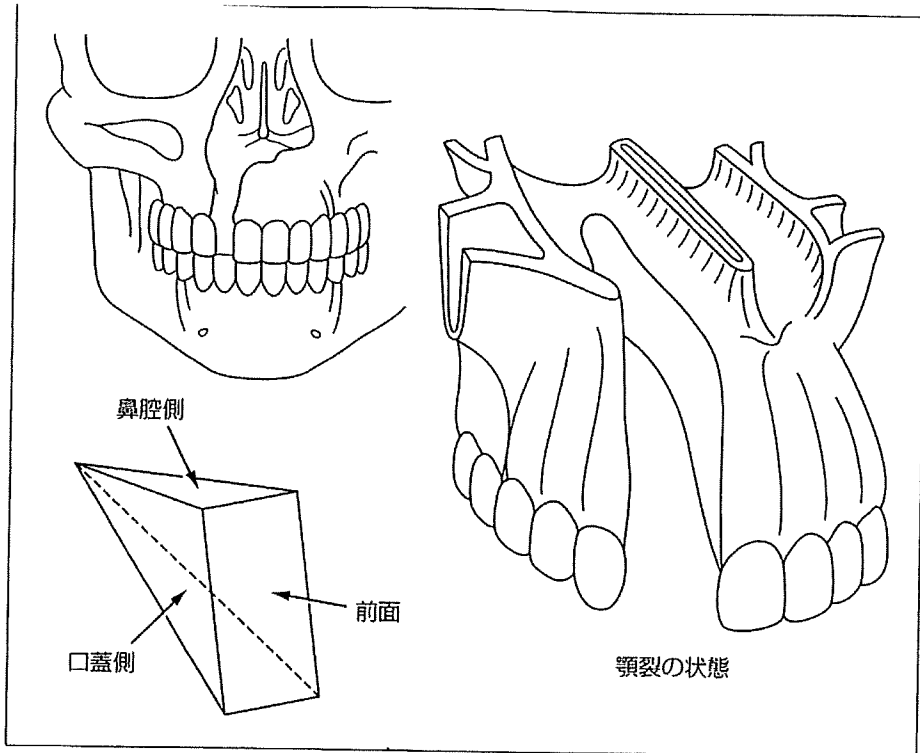


図 1.
右顎裂の場合
左上のように、顎裂側は梨状孔の下垂、前鼻棘の健側への偏位を認める。左下顎裂部は4面体構造であり、上面は鼻腔側、両顎裂面、口蓋側で構成される。

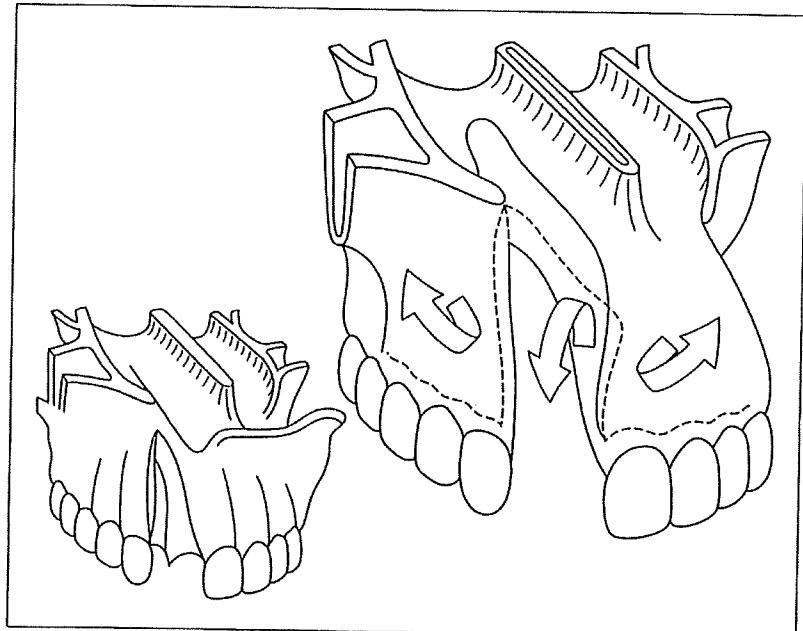


図 2.
粘骨膜弁の挙上の様子
左のように、鼻腔側、口蓋側の裂幅を確認し、顎裂縁からの切開位置を決定する。右のように顎裂内部の切開は鼻腔側、口蓋側の位置を決め、骨性裂隙よりも大きく、粘骨膜弁を剝離する。

出は10歳頃までかかるとされている。歯列との関係では、混合歯列期で犬歯の完全萌出前が至適時期とされる。また、この混合歯列期は横方向の上顎成長がほぼ終了しており、術前歯列矯正が容易であり、犬歯萌出の骨性準備時期としてより健全かつ安定しているなどのメリットが挙げられる。よって、8~10歳頃までは口蓋の拡大、歯列咬合の改善に最適と考えられる。

更に犬歯萌出後の場合、萌出時期に見られる盛んな骨増殖、吸収など骨代謝が見られずに後の骨吸収程度が高まるとされている。

厳密な混合歯列期の検討では混合歯列期の『後期』（一般的に9~11歳であり、犬歯歯根が1/4~2/3までの時期）と『前期』（中切歯の萌出直前）などの区別で、特に前期での骨移植は顎裂部の中切歯、側切歯、犬歯などの全歯萌出を目標としているものの、『前期』手術のメリットは長期的な結果など更に検討を要する²⁾。

骨移植を用いない顎裂再建法である歯肉粘骨膜弁法は唇裂初回修正時期の3~6か月時に顎裂閉鎖目的で実施する施設もあるが、その是非について今でも議論が盛んに行われている。顎裂部の再

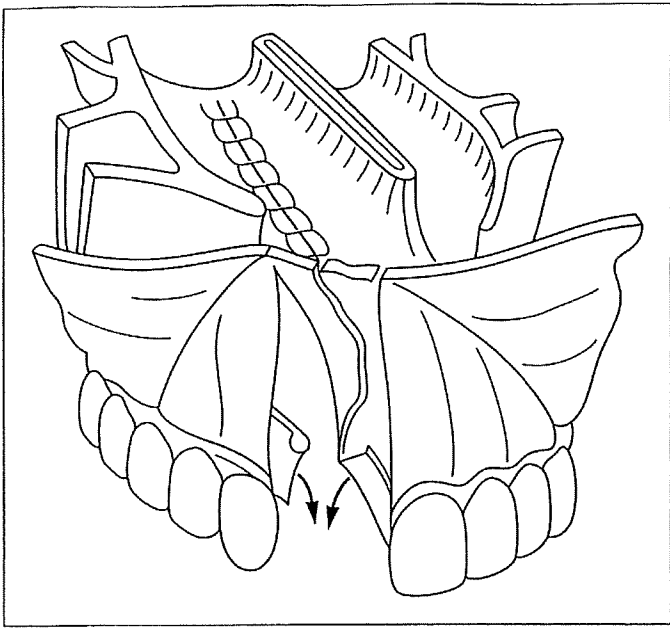


図 3.

鼻腔側粘骨膜弁を縫合し、更に口蓋側の剝離、前面の粘骨膜弁を剝離挙上する。

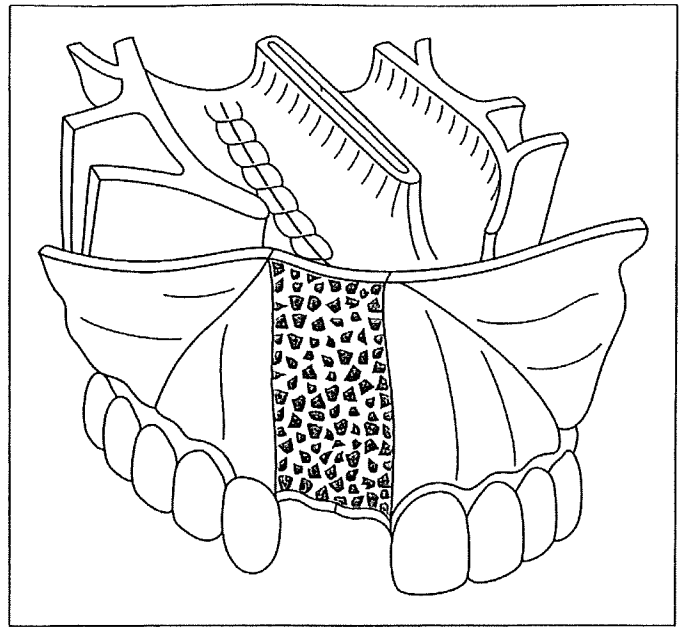


図 4.

鼻腔側、口蓋側粘骨膜縫合後、腸骨海綿骨をパッキングしたところ

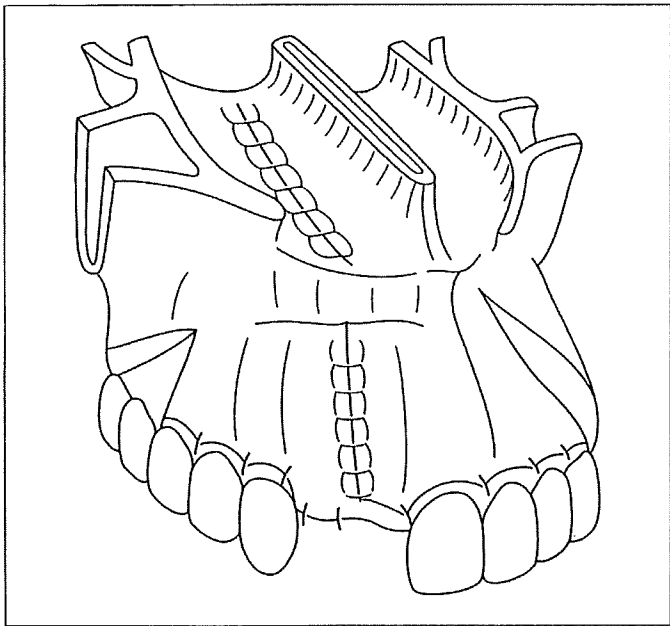


図 5.

最後に顎裂前面の粘骨膜弁をスライドさせ、歯槽粘骨膜弁で縫合する。縫合の際に過緊張とならないように十分な剝離をする。

建程度が、両側、片側唇裂初回時に実施した骨移植を用いない歯肉粘骨膜弁単独法で73%の症例に追加骨移植を必要せず、顎裂周囲の歯牙欠損率は正常範囲内で、顎成長は二次性骨移植と有意差なかったとするものや³⁾、両側、片側の1歳6か月～3歳時の口蓋形成時における骨移植を用いない歯肉粘骨膜弁法単独で95%以上に骨架橋を認めたとするもの⁴⁾、反対に片側例で、骨移植を用い

ない歯肉粘骨膜弁法と二次性顎裂骨移植を17歳時に比較した報告では、臨床評価では二次性骨移植法では88%が成功したものの、歯肉粘骨膜法では41%にとどまり、X線評価で歯肉粘骨膜弁法では90%以上が十分な骨架橋を認めなかったとの報告もある⁵⁾。

手 技

二次性顎裂骨移植における手技において骨および軟部組織欠損程度を3次元的に把握する必要がある。口蓋側粘膜と顎裂粘膜の連続性、口鼻瘻の存在を確認する必要がある。粘骨膜弁を中心とする軟部組織の被覆が骨移植後の被覆には必要である。顎裂の天蓋部は鼻孔底であり顎裂床は顎裂部から口蓋後面に至る。また、顎裂側方と顎裂正面と合わせて、骨性4面体構造である。口鼻瘻がある場合は前もって粘骨膜弁法や歯肉粘骨膜弁法を挙上して十分閉鎖する場合もある。

1. 片側例

口唇側の歯肉粘骨膜弁を顎裂近心側および遠心側で挙上する(図1～5)。切開は裂側の歯牙から開始し萌出歯が出てくる経路を粘骨膜弁で作成する。歯肉から2mm程度粘膜を残して通常は第一大臼歯近心まで延長するが、裂幅が広い場合より遠心に延長する。顎裂非披裂側の近心の切開は対



a/b
c

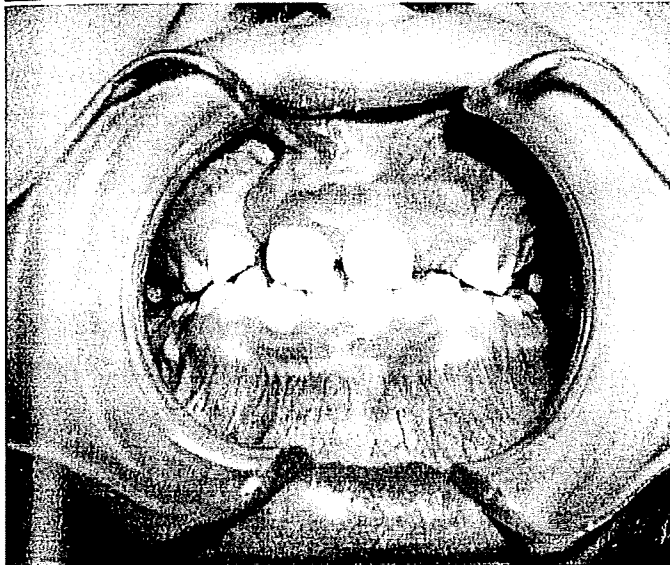


図 6.

8歳, 女児

- a: 右顎裂術直前, 右鼻孔底の下垂と鼻柱基部の健側への偏位を認める.
- b: 顎裂術前ベース像. 上口唇部の筋層再建されているものの, 鼻孔底の下垂を認める.
- c: 顎裂術前口腔咬合像. 健側側切歯も萌出していない.

側切歯まで切開する. 顎裂前面切開は裂縁を 2 mm 程度残し, 左右両側歯肉前庭溝まで延長する. 顎裂前面の切開が終了した時点で天蓋部は直視下に裂幅, 程度を確認することが可能となり, 骨移植量も推察できる. ほとんどの場合口蓋部は開放しているので側方裂内部の粘骨膜弁を下方(鼻腔側方向)に挙上して閉鎖する. また天蓋部は側方裂内部の粘骨膜弁を梨状孔縁に沿って上方茎として中心方向, 外側方向へ延長する. 通常顎裂部梨状孔は下垂していることが多いので, 術前 3DCT を参考として, 中心は前鼻棘を越えるまで, 側方は変形梨状孔縁の屈曲部まで剝離する必要がある. 顎裂底, 顎裂天蓋共に 4-0 バイクリルで結節縫合し, 口蓋最後部の 4 面体頂点まで十分に密閉閉鎖しポケット作成する. 腸骨稜内側の 1~2 cm の切開と丸ノミ, エイヒにより十分量の海綿骨を採取後, 顎裂ポケット部に骨を十分パッキングする. この際, 健側梨状孔縁より過矯正パッキング

すると共に, 側方顎縁よりも過矯正移植する. 最後に前面は口唇歯肉粘骨膜弁を近心, 遠心側から伸展し必要に応じて, 特に顎裂周囲部の骨膜側の切開, 更に遠心部の骨膜切開を追加する. 両側歯肉粘骨膜弁には過度の緊張を避け, 歯肉部を十分深く伸展縫合し終了する(図 6~9).

2. 両側例

両側顎裂の治療原則は片側の場合と同様である. 大きな問題点として挙げられるのが, 中間顎の血行であり, 通常前面の口唇側からの血行を維持する必要があるため特に近心部からの歯肉粘骨膜弁が限局される. また, 中間顎が特に発育不全の場合は片側ずつの二段階手術を考慮すべきこともあるものの, 通常は一次的に両側閉鎖可能である. また, 特に中間顎の突出, 下垂が高度の場合はその修正を含めて, 中間顎の骨切り術と両側顎裂骨移植を同時に実施することが多くあり⁶⁾, この場合も前面口唇からと鋤骨から中間顎への血行に

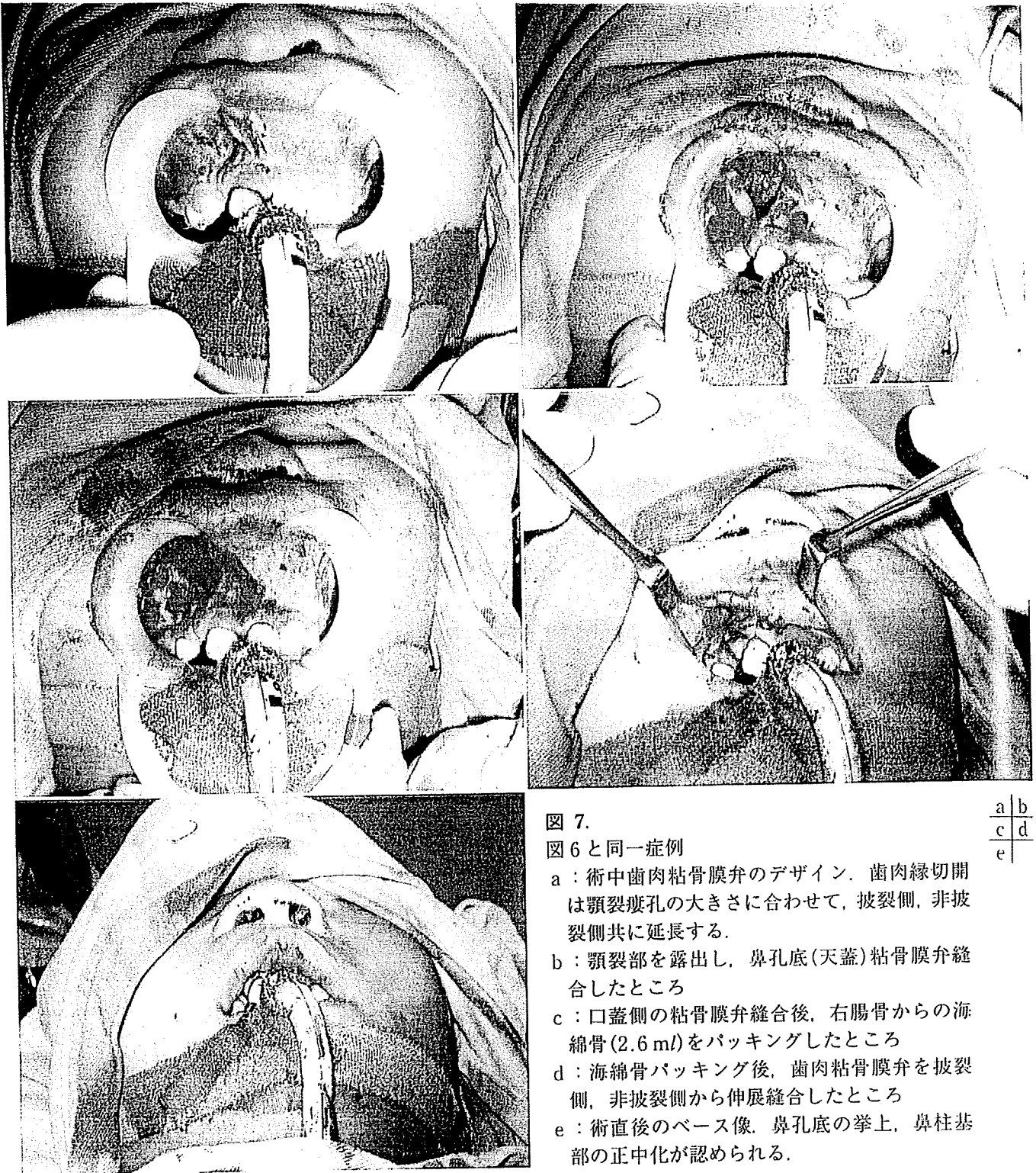


図 7.

図 6 と同一症例

- a : 術中歯肉粘骨膜弁のデザイン. 歯肉縁切開は顎裂瘻孔の大きさに合わせて, 披裂側, 非披裂側共に延長する.
- b : 顎裂部を露出し, 鼻孔底(天蓋)粘骨膜弁縫合したところ
- c : 口蓋側の粘骨膜弁縫合後, 右腸骨からの海綿骨(2.6 ml)をパッキングしたところ
- d : 海綿骨パッキング後, 歯肉粘骨膜弁を披裂側, 非披裂側から伸展縫合したところ
- e : 術直後のベース像. 鼻孔底の挙上, 鼻柱基部の正中化が認められる.

a | b
c | d
e |

十分注意しつつ後上方への移動と共に良好な結果を得ている. 後上方への中間顎の移動により骨移植のドナー量は少なくなるが, 中間顎は動揺するために, 術前から矯正ブラケット装着し固定する.

3. 骨移植のドナー

自家移植, 同種移植など種々検討されてきたが, 自家移植が一般的である. また歯肉粘骨膜弁法に代表される『骨なし骨移植』などもあるが, 通常の

二次性骨移植のドナーについては腸骨からの海綿骨が代表的である. その理由として, 海綿骨量が十分に採取可能であること, 顎裂部と同時に手術可能であること, 採取部の変形が少ないことなどにより第一選択となる⁷⁾. 他に肋骨, 脛骨, 頭蓋骨, 下顎の報告があるものの移植後に顎骨になりにくく, 術後の疼痛が大きい(肋骨), 小児の骨端部への悪影響(脛骨), 海綿骨の量の制限と同一部

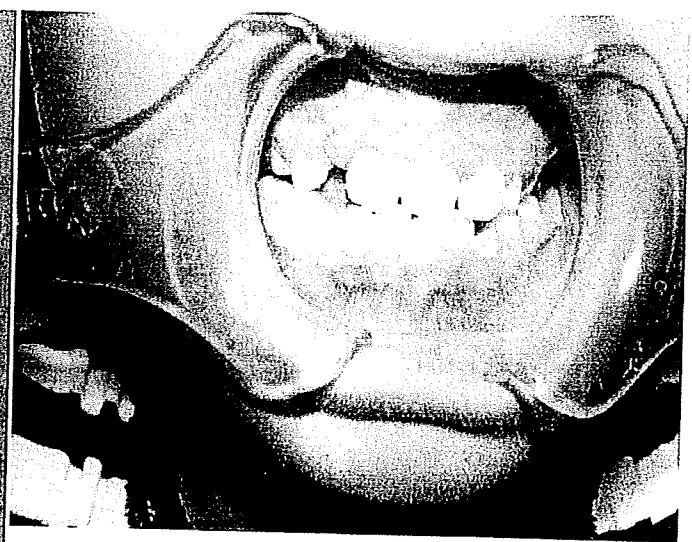


図 8.

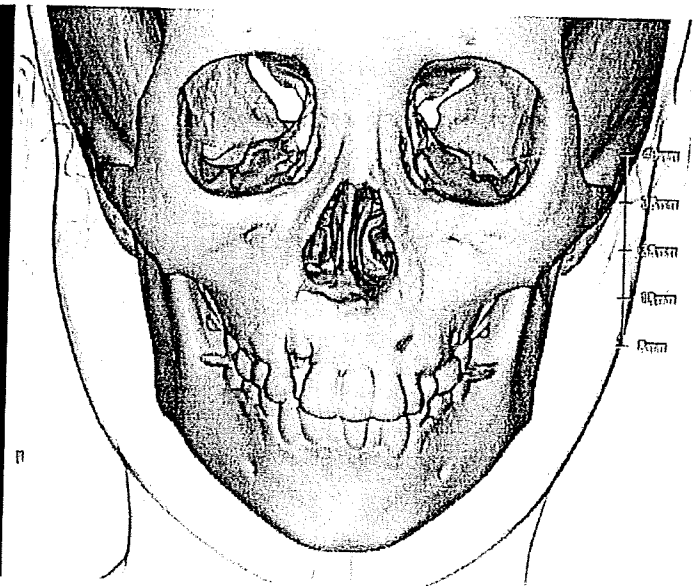
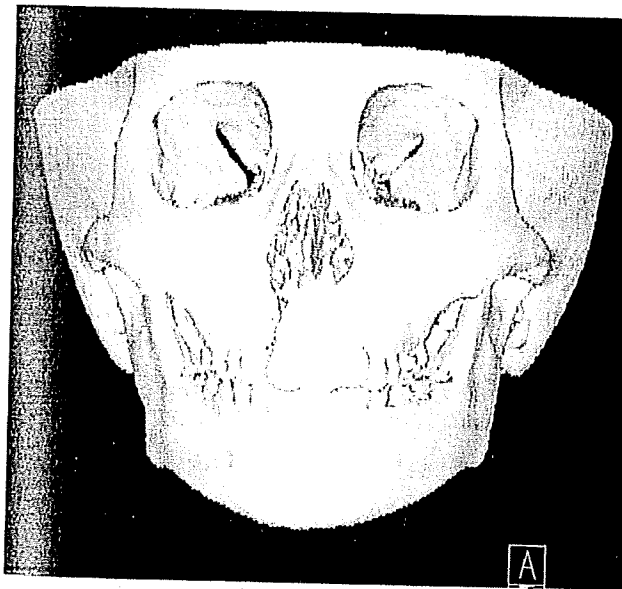
図 6 と同一の症例

a : 術後 1 年正面ベース像

b : 術後 1 年の口腔咬合写真

健側側切歯は萌出し、咬合面が水平化しつつあるものの、未だに混合歯列である。

a|b



a|b
c|

図 9.

図 6 と同一の症例

a : 顎裂骨移植術直前の 3DCT 像
右梨状孔の下垂と前鼻棘の健側への偏位。顎裂部は正面からは倒立四面体骨欠損状態である。

b : 術後 1 年の 3DCT 像
歯槽再建は十分得られ、患側犬歯も萌出しつつある。

c : 術後 1 年のパントモ像
咬合面全体の水平化と共に、患側犬歯の萌出を認める。



位であること(頭蓋骨), 海綿骨量の制限(下顎骨)などがあり, 第一選択ではない。

移植骨の安定性・長期予後

混合歯列後期に実施した片側二次性顎裂骨移植20例のCTナビゲーションシステムを用いた2年間の検討によって移植骨の状態, 骨吸収の状況が解析可能となり, 術前の欠損部に比較して, 1年目で51%, 2年目で52%の欠損状態であり, 術後1年および2年で犬歯単独が萌出した場合の骨量は術前と比較して49%, 45%であり, 犬歯・側切歯が共に萌出した場合は術後に骨量が11%増加したこと, 一方, 犬歯単独, 犬歯・側切歯を全く萌出しなかった例では5%程度であったとの報告がある⁸⁾。更に, 顎裂部への骨移植後にインプラント装着した片側例16症例の長期間(平均8年7か月)の検討では, 顎裂部への骨移植の吸収程度は12.5%のみが吸収増強しただけであり6年間のインプラントの装着術後に平均0.28mmの顎骨後退を認めるのみで全体のインプラント成功率は91%に迫ると報告されているように, 生着した顎骨は強固な骨性支持となる⁹⁾。これは, インプラントにより骨性支持が得られるため, 咀嚼によって再建顎骨への機能的な刺激となる。また, 片側唇顎裂患者でLe Fort I型骨切り術以前に顎裂骨移植を受けた場合の検討では, 術後3年までの後戻り率では横方向に31%, 縦方法に52%, 回転方向に30%の後戻りがあり, 特に6か月までに起こることが多いものの横方向においては事前の顎裂骨移植により上顎一体として移動可能となり, 有意に後戻りが少なかったとする報告もある¹⁰⁾。

新規の方法で将来の発展が期待される方法

1. ヒト遺伝子組換え型骨形成因子(Bone Morphogenetic Protein-2, BMP-2)を用いた方法

コラーゲンマトリックスに遺伝子組換え型BMP-2を含浸させ, 更にゼラチンを用いた方法を従来の腸骨稜からの海綿骨移植術の合計21

症例の検討では, 術後1年で合併症がBMP-2を用いた方法において有意に少なく, 骨生着量も多く, パントモ撮影, CT撮影では骨ミネラルが有意に多く, 骨重点量も有意に高い(95%と63%)こと, ドナー部の犠牲が全くなく, 入院期間も短縮し78%が日帰り手術可能であり, 手術費用全体も従来法と比較しておよそ半額(\$11,000)であったとの報告がある¹¹⁾。

2. 骨髄幹細胞を用いた方法

腸骨稜から骨髄幹細胞を吸引採取し, 吸収性コラーゲンスポンジと共に使用した組織工学法群, 従来の腸骨稜部からおよそ3cmの切開で海綿骨を採取した群, 腸骨からの海綿骨採取に6mmの切開創とトロッカーを用いた最小侵襲手術群でドナー部の疼痛を最長6か月まで疼痛の維持期間, 疼痛スケールを経時的に検討したところ, 術後6か月で組織工学法群(0%), 最小侵襲群(13%), 従来法(40%)と疼痛は残っており, 平均疼痛スケールも0, 2, 4と疼痛程度に有意な差を認め, 組織工学法はドナー部の神経損傷の回避には有利であることがわかっている¹²⁾。

参考文献

- 1) Horseywell, B. B., Henderson, J. M. : Secondary osteoplasty of the alveolar cleft defect. *J Oral Maxillofac Surg.* 61 : 1082-1090, 2003.
Summary 二次性顎裂骨移植の変遷を含めた, 総説であり, 同一術者の術法の経年的変遷も供覧している。
- 2) Russell, K. A., McLeod, C. E. : Canine eruption in patients with complete cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 45 : 73-80, 2008.
Summary 両側性および片側性顎裂二次性顎裂骨移植患者を早期(9歳以下), 後期(9歳以上)に分け, 上顎成長, 患側犬歯の萌出の程度などについて臨床データを検討している。
- 3) Sato, Y., Grayson, B. H., Garfinkle, J. S., Barillas, I., Maki, K., Cutting, C. G. : Success rate of gingivoperiosteoplasty with and without secondary bone grafts compared with secondary alveolar bone grafts alone. *Plast Reconstr Surg.* 121 : 1356-1367.

2008.
Summary 両側性および片側性顎裂患者への生後3か月～5か月での歯槽粘骨膜弁法単独, 平均年齢8歳5か月での二次性骨移植単独および歯槽粘骨膜弁と二次性骨移植を併用した群での後ろ向き試験し, 結果として, 歯槽粘骨膜弁法が有用であるとした.
- 4) Meazzini, M. C., Tortora, C., Morabito, A., Garattini, G., Brusati, R. : Alveolar bone formation in patients with unilateral and bilateral cleft lip and palate after early secondary gingivoalveoloplasty : long-term results. *Plast Reconstr Surg.* **119** : 1527-1537, 2007.
Summary 87例の片側性および29例の両側性顎裂患者への生後18か月～36か月での骨移植を用いない歯槽粘骨膜弁法により歯槽骨の骨形成, 鼻孔縁形態, 永久犬歯の萌出を検討し, 追加骨移植は一切必要ないと結論つけている.
- 5) Matic, D. B., Power, S. M. : Evaluation of success of gingivoperiosteoplasty versus secondary bone grafting in patients with unilateral clefts. *Plast Reconstr Surg.* **121** : 1343-1353, 2008.
Summary 生後3か月での歯槽粘骨膜弁法と永久犬歯萌出前の二次性顎裂骨移植法との比較を平均17歳で検討し, 歯槽粘骨膜弁法は90%以上不満足な結果に終わったとし, 二次性骨移植が標準的治療法であると結論付けた.
- 6) Akita, S., Hirano, A. : Usefulness of simultaneous pre-maxillary osteotomy and bone grafting in bilateral clefts. *J Craniofac Surg.* **17** : 291-296, 2006.
Summary 両側顎裂患者の二次性顎裂骨移植法における, 中間顎偏位症例の位置修正と同時骨移植法の有用性の提案であり, 安全は術法であり片側ずつの骨移植法と比較し, 有用であるとした.
- 7) Rawashdeh, M. A. : Morbidity of iliac crest donor site following open bone harvesting in cleft lip and palate patients. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **37** : 223-227, 2008.
Summary 一般的な顎裂骨移植のドナーである腸骨海綿骨採取後の合併症を入院期間, 疼痛, 歩行状態, 癒痕程度, その他で検討し, 特に大きな問題点はないと結論付けた.
- 8) Feichtinger, M., Zemann, W., Mossbock, R., Karcher, H. : Three-dimensional evaluation of secondary alveolar bone grafting using a 3D-navigation system based on computed tomography : a two-year follow-up. *Br J Oral Maxillofac Surg.* **46** : 278-282, 2008.
Summary 二次性顎裂骨移植を実施した20例の片側例において, 術後1年, 2年の骨吸収量, その方向を三次元ナビゲーションシステムを用いて, 定量的評価した.
- 9) Takahashi, T., Inai, T., Kochi, S., Fukuda, M., Yamaguchi, T., Matsui, K., Echigo, S., Watanabe, M. : Long-term follow-up of dental implants placed in a grafted alveolar cleft : evaluation of alveolar bone height. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **105** : 297-302, 2008.
Summary 顎裂部への骨移植後に歯科インプラントを装着した症例で, 臨床, X線評価を平均8年6か月追跡し, 16例中2例のみに, 歯間顎骨吸収が認められたに過ぎず, 二次性顎裂骨移植は歯科インプラントにも十分対応可能であるとした.
- 10) Thongdee, P., Smamman, N. : Stability of maxillary surgical movement in unilateral cleft lip and palate with preseding alveolar bone grafting. *Cleft Palate Craniofac J.* **42** : 664-674, 2005.
Summary Le Fort I型骨切り術を実施した片側唇顎裂例で顎骨切り術前に骨移植した場合は歯列の横方向を良好に維持するが, 垂直方法, 水平方向への安定化にはあまり貢献しないとした.
- 11) Dickinson, B. P., Ashley, R. K., Wasson, K. L., O' Hara, C., Gabbay, J., Heller, J. B., Bradley, J. P. : Reduced morbidity and improved healing with bone morphogenetic protein-2 in older patients with alveolar cleft defects. *Plast Reconstr Surg.* **121** : 209-217, 2008.
Summary 顎裂部への骨形成因子(BMP-2)およびコラーゲンマトリックスを使用した例と通常の腸骨からの骨移植術との比較で, 骨移植部の欠損容積, 採骨ドナー部位の疼痛スケール, 入院期間と医療コスト全体がBMP-2を用いた症例で有利であったとの報告.
- 12) Gimbel, M., Ashley, R. K., Sisodia, M., Gabbay, J. S., Wasson, K. L., Heller, J., Wilson, L., Kawamoto, H. K., Bradley, J. P. : Repair of alveolar cleft defects : reduced morbidity with bone marrow stem cells in a resorbable matrix. *J Craniofac Surg.* **18** : 895-901, 2007.
Summary 顎裂骨移植の採骨ドナー部位の通常の3cmの切開法によるものと, トロツカーを用いた小切開による骨髓幹細胞液とゼラチンマトリックスとの混合法との比較で幹細胞移植法は6か月でドナー部の疼痛が完全に消失し有利であったと報告.

白血病抑制因子 (LIF)

秋田定伯*

Key words : 糖蛋白 受容体情報伝達 全身と局所

はじめに

白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor; LIF) は神経栄養性サイトカインに分類されており, このメンバーにはインターロイキン-6 (IL-6), IL-11, 毛様体神経発育因子 (CNTF), カルジオトロフィン (CT-1), オンコスタチン M (OSM) などが含まれている¹⁾。これらの因子は天然の状態でも多機能因子であるが生物学的活性を共有している。特に, 急性反応因子として有名である²⁾。LIF の活性範囲や予想される機能は, 広範囲で多岐にわたる。内分泌, 神経, 肝臓, 間質, 免疫, 炎症細胞に関与している。

ヒト LIF 遺伝子は染色体 22q12.1-12.2 に位置しておりコピー数は単一である。受容体は染色体 5p12-13 に位置する。転写因子領域は nuclear factor (NF) - κ B, activator protein-1 (AP-1), NF-IL- γ が LIF のプロモーター領域である³⁾。これら転写因子は, 表皮の増殖・炎症と関連している。ヒト LIF 蛋白は 180 アミノ酸の糖蛋白であり, 分泌性・細胞外マトリックス接着性の 2 タイプで存在しており, 細胞外マトリックス接着性タイプは起源を同じにする細胞間のシグナリングに関与すると思われる。転写後の分泌性 LIF 蛋白は 20 kD

であるが N 末端は糖鎖化し最終的に 32~67 kD 程度になる。これら 2 タイプは LIF 遺伝子エクソンのスプライシングの相違により起こり, LIF の三次元構造では α ヘリクス束を有している³⁾⁻⁸⁾。

著者は 1993 年から 1996 年にかけて, シーダース・サイナイ医療センター (ロスアンゼルス) において, ヒト胎児由来下垂体および, 遺伝子改変モデルを用いた LIF の生体内における発現・制御に関して研究してきており⁹⁾⁻¹²⁾, 長崎大学では主に創傷治癒に関連した基礎的および臨床的研究を進めている。今回その内容を概説し, この極めて特異的な糖蛋白の今後の臨床展開の可能性について報告する。

1 LIF の生物学的活性と供給源

LIF は胎性幹細胞の増殖因子として知られ, 多機能状態に維持しており, 胚盤胞の着床に重要である。文字通り, LIF は LIFE (生命そのもの) である⁴⁾⁵⁾。LIF は増殖・分化因子として M1 単核球細胞株分化を刺激し, ある種の腫瘍細胞には増殖因子として作用する一方, べつの腫瘍細胞にはアポトーシスを誘導する。LIF はマウス腫瘍モデルでは悪液質に関与するとされている。LIF の濃度は敗血症では急激に上昇し, それゆえに LIF は急性・慢性炎症状態を制御すると考えられる³⁾⁵⁾⁶⁾。LIF は炎症過程に関与しており, 急性蛋白の

*長崎大学大学院医歯薬学総合研究科形成外科

発現上昇を誘導する。神経系では LIF はニューロンの増殖と分化を促進し傷害から神経を保護する¹³⁾¹⁴⁾。細胞が LIF を発現する程度や生物学的活性は広く、神経系-内分泌系-免疫系の共通言語（架け橋）分子であると推定されている。

LIF は非常に広範囲の細胞から産生されており、T 細胞、胸腺上皮細胞、星状細胞、ニューロン、マスト細胞、線維芽細胞、ケラチノサイト、上皮細胞、内皮細胞、骨芽細胞、滑膜細胞、単核球細胞、マクロファージなどが挙げられる。通常、正常な状態の細胞では 프로모ーター領域の抑制機構のために発現程度は低く、非常に低濃度である。構成上 LIFmRNA 発現は子宮外ではほとんど認められないものの、炎症因子によって細胞を刺激するとほとんどの場合蛋白発現する。多くの LIF 誘導因子がプロテインキナーゼ C 活性を上昇させる。LIF の発現誘導因子として細菌由来のリポ多糖体、IL-1、腫瘍壊死因子- α (TNF- α) が挙げられる。LIF はさらに IL-6, IL-17, 顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF), トランスフォーミング増殖因子- β (TGF- β), 紫外線刺激 (UVR), 抗炎症因子の糖質コルチコイド, LIF 抑制因子の IL-4 などでも誘導される³⁾⁸⁾。

III 創傷治療における LIF 研究の展開

1. 白血病抑制因子遺伝子導入による同種移植への効果

LIF は全身的、局所的免疫反応に関係すると報告されているが²⁾、さらに胸腺での T 細胞の成熟や胎児-母体間の着床免疫にも関係すると報告されている²⁾。サイトカイン遺伝子の LIF を用いて、同種皮膚移植の生着延長効果について分子生物学的に検討し、遺伝子治療応用を試みた。

BALB/c と B6D2F1 の 2 種類のマウスの系

統を用い、おのおの皮膚移植の移植片と母床として同種移植を行った。プラスミド LIF cDNA を植皮片中に注入し最長 21 日間観察した。LIF, LIF 固有受容体 (LIF-R), 情報伝達受容体 (gp130) と Type 1 および Type 2 ヘルパー T 細胞発現を RT-PCR 法, *in situ* hybridization 法, 組織観察法を用いて検討した。

マウス LIF cDNA (670 bp) を pcDNA 3 プラスミドベクターの EcoRI-NotI 部位に挿入し、サイトメガロウイルスプロモーターを上流に、ウシ poly A tail を下流に設定し LIFcDNA プラスミドを作成した。LIF プラスミド濃度は、 $1.0 \mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ であり、対照にはベクタープラスミドの挿入とした。注入群は対照群に比較し、有意に B6D2F1 から BALB/c および BALB/c から B6D2F1 への同種移植で生着延長を 21 日間の観察で認めた。LIF, LIF-R 発現は同種移植後 24 時間、21 日間での同種移植でも発現を認めたものの、gp130 発現は LIF 注入群の B6D2F1 植皮片を BALB/c 母床に移植した時のみ移植後 21 日で認められた。LIF cDNA 注入群は表皮、真皮、皮下組織に著明な発現を *in situ* hybridization 法で確認できた。

以上から LIF cDNA 注入は皮膚同種移植の有効な治療手段であり、サイトカイン遺伝子の同種移植への遺伝子治療は皮膚欠損創の被覆に有用であると考えられた¹⁵⁾。

2. 白血病抑制因子情報伝達受容体調節による皮弁延長効果

—サイトカイン依存性 gp130 受容体分画はラット修正腹壁皮弁を制御する

LIF 受容体 (LIF-R) はクラス I サイトカイン (造血系) 受容体ファミリーであり、さらに IL-6, IL-11, CT-1, CNTF, OSM などと gp130 サブユニットを共有する。このことがこれらサイトカインの生物学的活性の重複の理由ともなっており、高親和性の LIF-R (kD

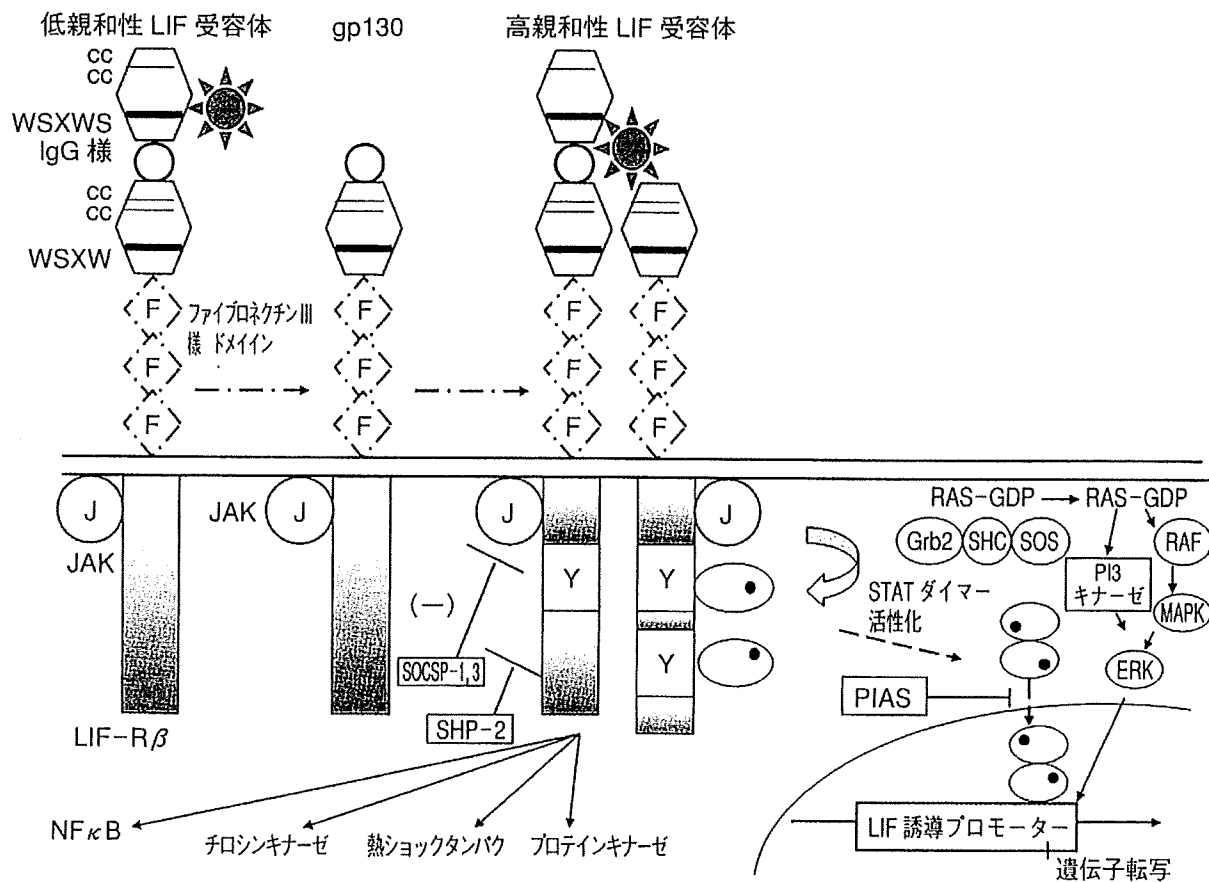


図 LIF 受容体と細胞・核情報伝達

LIF 受容体と LIF の細胞内情報伝達。低親和性 LIF 受容体は LIF と結合し構造的に相似しており、gp130 とも結合する。蛋白ドメインを記載しておりシステイン (CCs) トリプトファン-セリン-x-トリプトファン-セリン (WSXWS) 構造がサイトカイン結合ドメインであり、六角形で示している。末端にはファイブネクチン III 様構造の繰り返しがあり IgG 様ドメイン、細胞内ドメインがあり、細胞内には JAK キナーゼがリン酸化する。

高親和性 LIF 受容体は LIF が低親和性 LIF 受容体である LIF-Rβ と結合し情報伝達成分である gp130 とヘテロ結合する。この後に JAK キナーゼは活性化し、高親和性 LIF 受容体の細胞内ドメイン中のチロシンに結合リン酸化する。また STAT-1 または STAT-3 転写因子と接合するよう SH-2 ドメインが活性化される。STAT 蛋白はホモ結合またはヘテロ結合し、LIF によってされる遺伝子の核内に移行し転写制御する。

それとは別に、LIF は RAS/MAP キナーゼ情報伝達経路 (MAPK) を活性化する。

情報は抑制蛋白によって消失され、可溶性 LIF-Rβ は情報伝達せずあたかも LIF の如く細胞膜上の LIF 受容体に結合する。チロシンリン酸化酵素の SHP-2 は情報伝達蛋白を脱リン酸化する。更に SOCS と呼称される蛋白は高親和性 LIF 受容体リン酸化を抑制する。加えて PIAS 抑制因子群は JAK 活性を抑制及び DNA と STAT が結合するのを防止する。

また別の経路では LIF 受容体の活性化に PI3 経路, MAPK を活性化するものもある。

$=1 \times 10^{-12}$ M) (pM) は結合受容体 LIF-R と情報伝達サブユニット gp130 とヘテロ二重結合を構成し、さらに低親和性 LIF-R サブユニット ($kD=1 \times 10^{-9}$ M) (pM) はこれとは別に構成されている (図)。

平均して細胞あたりおよそ 50~3,000 の高親和性受容体が存在するとされており、低親和性受容体 (LIF-R) と gp130 は細胞膜に存在し、

細胞外および細胞内ドメインを有している。可溶性 LIF-R も存在し、LIF 活性抑制因子として働いている。低親和性 LIF-R はリガンド結合部位として OSM, CNTF, CT-1 受容体複合体を構成している。最近 LIF は Ras/mitogen-activated protein (MAP) キナーゼ経路, フォスファチジルイノシトール-3 経路 (PI-3), 核因子κB (NF-κB), プロテインキナーゼ C,

熱ショック蛋白 hsp28 リン酸化経路を通じた情報伝達することがわかっている¹⁶⁾。

高親和性 LIF-R 受容体を通じた情報伝達は、ヤヌスキナーゼ (JAK)-1, JAK-2 またはチロシンキナーゼ (TYK)-2 の活性化を必要とする。これらキナーゼはアミノ酸チロシン基の細胞室内 LIF-R および gp130 ドメインをリン酸化し、さらにこの部位に転写因子である情報伝達転写活性因子 (STAT) ファミリー結合部位を提供する。STAT-1, STAT-3, STAT-5 が LIF 情報伝達に参与する。STATs 転写因子群は JAK-1 および JAK-2 のリン酸化が二重結合と核への移行を促進し、核で LIF 刺激による遺伝子活性化・転写が起こる。LIF 情報伝達はサイトカイン情報伝達抑制因子 (SOCS) 蛋白により抑制されている。SOCS は JAK 系と結合し、それを抑制する。Scr 相同蛋白チロシンリン酸化因子 (SHP)-2 は、MAP キナーゼ系を刺激し情報伝達促進する一方、LIF-R 複合体とともに活性化し、チロシンからリン酸塩の除去により情報伝達を終了させる。

別の抑制因子としては、活性 STAT 活性抑制蛋白 (PIAS) があり、STAT-1 および STAT-3 の DNA への結合を抑制する。可溶性 LIF-R は主に転写時スプライシング異形 (alternative splicing) により作成され、LIF の生物活性の内因性の抑制因子である。SHP-2 蛋白はチロシンキナーゼリン酸化塩であり、チロシンキナーゼのリン酸化の活性を鎮静化するが、MAP キナーゼ経路では情報伝達を刺激するとされている¹⁷⁾。

本研究では、gp130 シグナル受容体の制御により皮弁の生存延長と活性上昇を確認した。LIF 関連サイトカインによる毛細血管管腔形成は3日目から始まるとされている¹⁸⁾。gp130 中和抗体は IL-6 関連サイトカイン作用を制御する。LIF が血管新生を個体種や細胞によって増殖し、抑制するのに対し、サイトカインシグナル受容体制御はわれわれの研究

結果が示すように¹⁹⁾、リガンドの種類・量に左右されにくいより安定した結果となる。本結果から、LIF はほかの増殖因子のように濃度、局所の環境により二層性効果をもたらす可能性がある。LIF の血管新生に関するほかの重要な特徴は、標的血管の大きさであって大血管内皮細胞や微小血管内皮細胞の血管新生を抑制するのに対し、ウシでは大血管内皮細胞増殖を抑制するが、毛細血管内皮細胞にはほとんど効果がない。また、一方では、LIF と oncostatin M はヒト微小血管内皮細胞に関しては増殖性に作用するが、ヒト大血管内皮細胞に関しては刺激しないとの報告もある²⁰⁾。本研究では、LIF cDNA 単独では形態的にも、微小血管造影でも、レーザー血流計でも微小血管の血管新生を刺激も抑制もしないことがわかった。術後3日で LIF 転写発現はどの実験群でも同程度に認められた。gp130 発現は各実験群で顕著であり、特に LIF cDNA 投与群では他群よりも顕著な gp130 転写発現を認めたため、LIF も gp130 シグナル情報伝達経路を通過することから LIF cDNA 群に特に発現上昇したのではないかと推測される。組織像では、おそらくリンパ球と思われる小細胞が gp130 中和抗体、LIF cDNA 混合群で浸潤していた。以前報告したように¹⁵⁾、局所に投与された LIF cDNA は免疫寛容を誘導する 2 型ヘルパー T 細胞を凝集する事実とも一致する。

今回の皮弁モデルでは、LIF 刺激が gp130 中和抗体により排除されると、術後3日で皮弁血行は逆に増加した。レーザー血流計では gp130 中和抗体注入により、術後3日で LIF cDNA 群などと比較し著明な血流上昇を認めた。われわれのデータでは血管内皮増殖因子、Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) 転写発現は RT-PCR 法で gp130 中和抗体群において発現上昇しており、gp130 とサイトカインとの相関、VEGF との相関を分子レベルで認め、皮弁延長効果となったと考えられ

る。gp130 中和抗体療法は、血管茎近傍で血管形成を刺激し、遠位まで血管の延長を認め、血管同士の吻合も促進していた。安価で容易に血管新生を誘導する方法として有用であると結論づけられた¹⁹⁾。

3. 白血病抑制因子遺伝子挿入細胞と血管内皮増殖因子による創傷治癒効果

—白血病抑制因子遺伝子トランスフェクション胎児性線維芽細胞と血管内皮増殖因子は人工真皮とともに血管新生と細胞外マトリックス産生を増加させ、創傷治癒を促進する—

細胞増殖因子には、局所炎症、再上皮化、肉芽形成、血管新生、細胞外マトリックス産生を種々の細胞源からさまざまな機序で放出・産生している。細胞増殖因子の中の LIF に注目した。本増殖因子は糖蛋白の一つであり、下垂体の血管構成を支配するとされている。LIF はマウスにおいて胚性幹細胞維持に必要であり、受傷後にケラチノサイトから反応発現し、抗炎症、鎮静作用も有する。*In vitro* におけるヒト真皮線維芽細胞培養システムにおいて、LIF は TNF- α により蛋白産生と転写発現が増強されている。ある研究では、IL-1 β 、IL-6 を増加させることで、表皮細胞、神経細胞、角膜細胞において LIF は炎症、免疫、結合織代謝を制御するとの報告がある²⁰⁾。人工真皮と LIF cDNA 遺伝子トランスフェクション導入胎児線維芽細胞を VEGF とともに使用し、真皮マトリックスの再構築とスムーズな血管新生が可能か検討し、胎児性線維芽細胞における LIF および VEGF 経路情報伝達機構の解明と、生体内での相乗作用についても検討した。

本研究の結果ではマウス胎児線維芽細胞は VEGF1 型受容体/Flt-1 発現を認め、VEGF 情報経路の細胞増殖性を認めた。仙骨部褥瘡における VEGF 受容体発現の相違が受容体の種類によって認められるとの報告がある²¹⁾。マウス胎児性線維芽細胞は LIF cDNA の遺伝子

導入に成功した。LIF 遺伝子導入と外部からの VEGF 添加は構造的な LIF 情報伝達経路の STAT 経路だけではなく、MAP キナーゼのリン酸化を認めた。持続的な STAT 蛋白発現は LIF のオートクリン/パラクリン情報伝達を推察させた。BALB-3T3 細胞における LIF 分子の STAT3 経路の間接的な細胞増殖はドミナント・ネガティブ STAT3 遺伝子導入で確認されている。LIF 単独では MAP キナーゼ活性の上昇は不可能であったと、LIF 刺激後の下垂体遺伝子プロモーターを用いた実験で確認されている²²⁾。われわれの以前の実験結果では LIF 遺伝子導入 BAL-3T3 線維芽細胞は MAP キナーゼのリン酸化が不可能であった。線維芽細胞において、VEGF とともに LIF 遺伝子導入は MAP キナーゼリン酸化を活性化し、この事実は大動脈血管内皮細胞と心筋細胞でも確認されている。VEGF は LIF が gp130 発現の活性後 3 時間でピークとなるよう STAT3 チロシンリン酸化と VEGF mRNA 発現させる。今後の研究が待たれるところであるが、LIF 遺伝子導入胎児線維芽細胞と VEGF 添加は STAT3 と MAP キナーゼを同時に活性化する。人工真皮は理想的に細胞・因子を維持し 1 型コラーゲンなど細胞外マトリックスを誘導し、血管内皮性血管新生は CD34 発現を LIF 遺伝子導入、VEGF 添加 BALB-3T3 線維芽細胞において確認できた。新生血管および血管新生は、CD34 発現で LIF 遺伝子導入細胞に VEGF 添加した場合より高度で、発現の拡大を認めた。VEGF の効果と情報伝達は MAP キナーゼと STAT3 経路を通じている。間質細胞における VEGF の遺伝子発現は、塩基性線維芽細胞増殖因子などの別のサイトカインでも活性化し、血管新生は免疫不全マウスにおけるマトリゲル実験でも確認されている。1 型コラーゲン発現は、LIF 遺伝子導入線維芽細胞と VEGF 添加により線維芽細胞周囲に高度の発現を認める。これらの結果から、今回の実験結果において成人型細胞外マトリク

スの蓄積が認められた。また、VEGF 10 ng および 100 ng 添加と LIF 遺伝子導入による細胞性フィブロネクチン値の上昇は、ほかの細胞外マトリックスも蓄積する可能性がある。CD34 陽性細胞は血管数の増加を示唆する。ブタ創傷治癒モデルにおいて VEGF は血管形成、血管新生に術後 7~14 日で重要な役割を果たしており、超音波検査、組織像、貯留液内部の酵素関連吸着法によるアッセイ (ELISA 法) で確認されている²²⁾。ウサギ角膜を使用した毛細血管形成アッセイでは、VEGF 移植に一致して血管新生刺激が認められた。われわれの以前の報告¹⁵⁾において、皮膚同種移植への LIF cDNA 注入が 2 型ヘルパー T 細胞由来遺伝子発現による免疫寛容を誘導している。今回の研究では LIF 由来情報伝達は血管新生刺激因子とともに別経路を通じて増強され、血管新生と成熟真皮細胞外マトリックス産生を認めた。

今回の研究では LIF-gp130-STAT3 経路で情報伝達し、VEGF 添加により MAP キナーゼが活性し理想的な真皮マトリックス蓄積と血管再形成を認めた。本法は皮膚軟部組織の被覆における臨床応用に使用可能であると思われる²³⁾。

4. 広範囲熱傷患者血中の白血球抑制因子の動向

—広範囲熱傷での白血球抑制因子の上昇

IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α などの炎症性サイトカインは *in vitro*, *in vivo* 両方で視床下部-下垂体-副腎 (Hypothalamic-pituitary-adrenal; HPA) 軸を刺激することが知られており、壊死性筋膜炎は非常にまれながらも急速に進行する感染症であり、一方熱傷患者の血清サイトカイン値も種々報告されているように、感染が成立する前にも IL-6 値は初期に上昇する。IL-6 は敗血症の発達に関与しており、抗-IL-6 と可溶性抗 IL-6 受容体抗体が熱傷モデルで検討されている。急

性期損傷とサイトカインの相関は致死確率の予想因子となり、治療目標となる。LIF は多能性細胞増殖因子・サイトカインで種々の組織・細胞で発現しており、急性期の炎症反応とストレス反応期の HPA 軸の反映因子となると考えられる。最近、ACTH, AVP, コーチゾル, CRH などの血漿中ストレスホルモンが広範囲重症熱傷に反応するとの報告もある²⁴⁾。LIF と IL-6 は gp130 共通の受容体サブユニットを持ち、情報伝達は JAK/STAT 経路のリン酸化を通じており、LIF, IL-6 とともに HPA 軸を刺激し損傷に反応して発現し、循環中のサイトカインは HPA 軸の神経回路刺激の端緒となる可能性がある。そこで血清 LIF の動きを広範囲熱傷で検討し HPA 軸への反応マーカーとなるか検討した。

本研究では、循環血中の LIF 値をラジオ免疫アッセイ法で広範囲熱傷との関与について初めて報告している。IL-6 とプロカルシトニン値は重篤な (総熱傷面積 30 % 以上) 熱傷例で上昇する。LIF は急性反応分子として認識され敗血症、胸水中、炎症性滑液、巨細胞関節炎の血清中に確認されている。LIF 値上昇のメカニズムはサイトカイン産生カスケードによっている。一例として、TNF- α は敗血症性ショック時に LIF 発現を調節している。LIF は HPA 軸において循環中の ACTH とコルチコステロンを調節するなど重要な役割を有する。LIF 欠損マウスモデルでは HPA 軸経由のストレス反応は有意に低下しており、下垂体性 LIF 発現は IL-1 β にて調節されている。HPA 軸反応は生体維持、免疫反応、神経生存に重要であり、LIF は広範囲熱傷において貯留コーチゾル値を増加させ HPA 軸を増強する。LIF は客観的な診断上、病状重症度、病状の進展の指標となるのかもしれない。血清 IL-6 は臓器機能不全および重症度と相関すると推察され、胎児の初期診断因子と可溶性 TNF 受容体とともに示唆されてきた。敗血症ショックにはコーチゾル値

により予後予想分類がある。それは基礎的コチゾル値と短期 ACTH 刺激に対する反応で分類され、最も予後不良例はコチゾルの基礎値が高く、短期 ACTH 刺激テストの最大反応値が低いものである。非生存者群は敗血症のみにより死亡したわけではないものの、ACTH 刺激試験は今後 HPA 軸の効果をより明白にするために必要かもしれない。CRP はよく使用される炎症マーカーであり、急性膵炎における IL-6 値と正相関し、病気の重症度を反映するが、われわれの本研究では CRP と病気重症度とは正相関を認めなかった。さらに、LIF と IL-6 の機能は、共通受容体を介して受容体後情報伝達において gp130 分子 STAT 経路を介していることが、HPA 軸でも判明している。敗血症性ショックの患者では血漿 LIF 値が高値の場合予後が悪いとの報告もあり²⁵⁾、われわれのデータも受傷後 36 時間での広範囲熱傷患者における血清 LIF と予後に関して相関を認めた。初期の HPA 軸への LIF の関与は神経-免疫-内分泌システムを制御すると考えられる。貯留遊離尿中コチゾルは HPA 軸の最終代謝・産物を反映し、この上昇は癌患者におけるインターフェロン β 注射後上昇のみならずヒトにおける精神状態を反映するとも報告されている²⁶⁾。われわれの今回の研究では、尿中遊離コチゾル分泌量は血清 LIF 値と正相関しており、尿中コチゾル分泌量の増加は比較的長期間持続している。Proopiomelanocortin (POMC) 発現と ACTH 分泌により LIF 発現・分泌は上昇し、交感神経はカテコラミン遊離により副腎皮質を活性化し、下垂体外でのメカニズムを介している。LIF 遺伝子欠損マウスを用いた実験結果から、LIF はストレスと炎症状態で HPA 軸を刺激、維持する。われわれは広範囲熱傷で LIF 値と HPA 軸マーカーには正相関があり、特に LIF 濃度の初期からの高値に維持された場合致命率と関連する。LIF は熱傷の重症度予後因子として有用

であると推察された²⁷⁾。

まとめ

非常に多くの細胞、組織が白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor ; LIF) の発現、転写調節に関与しており、さらに、比較的明確な受容体以降の情報伝達経路が判明しているため、発生・病態に関連づけて基礎的・臨床的な検討がされている。糖蛋白であり、比較的安全に投与可能であること、遺伝子プラスミドを用いた遺伝子導入、ラジオ免疫法によるアッセイ検出法などが可能である。LIF 単独または、他細胞・因子とともに、創傷治療に応用可能であると思われ、今後、比較的臨床使用しやすい組換え型蛋白の開発が望まれる。

引用文献

- 1) Turnley AM, Bartlett PF : Cytokines that signal through the leukemia inhibitory factor receptor- β complex in the nervous system. *J Neurochem* 74 : 889-899, 2000
- 2) Baumann H, Gauldie J : The acute phase response. *Immunol Today* 15 : b 74-80, 1994
- 3) Knight D : Leukemia inhibitory factor (LIF) ; A cytokine of emerging importance in chronic airway inflammation. *Plum Pharmacol Ther* 14 : 169-176, 2001.
- 4) Gearing DP : The leukemia inhibitory factor and its receptor. *Adv Immunol* 53 : 31-58, 1993
- 5) Gadiant RA, Patterson PH : Leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and other cytokines using the GP130 transducing receptor ; Roles in inflammation and injury. *Stem Cells* 17 : 127-137, 1999
- 6) Alexander HR, Billingsley KG, Block MI, et al : D-factor/leukemia inhibitory factor ; Evidence for its role as a mediator in acute and chronic inflammatory diseases. *Cytokine* 6 : 589-596, 1994
- 7) Hilton DJ, Gough NM : Leukemia inhibitory factor ; A biological perspective. *J Cell Biochem* 46 : 21-26, 1991
- 8) Auernhammer CJ, Melmed S : Leukemia inhibitory factor ; Neuroimmune modulator of endo-