

## 体表の再建と再生医療

自治医科大学形成外科

吉村 浩太郎

Kotaro YOSHIMURA



### 1. はじめに

身体を被覆する組織は、一般的には表面から、皮膚(粘膜、毛髪、爪、汗腺などの付属器を含む)、皮下脂肪(浅筋膜を含む)、深筋膜、骨格筋、骨膜、骨の順番である。本稿で扱う体表とは、皮膚と皮下脂肪を指す。体表組織の再建は、ケガや手術で組織が欠損した場合、瘢痕拘縮などで運動制限や痛みが出た場合、あるいは、糖尿病、圧挫や放射線などで組織が阻血になり難治潰瘍が生じた場合などに、必要となる。

### 2. 皮膚、皮下組織の幹細胞

表皮の基底膜上には表皮角化細胞の前駆細胞として表皮基底細胞が数多く存在して、表皮のターンオーバーを司っている。一方、外傷などの緊急時に働く幹細胞として、表皮幹細胞が基底膜に接して表皮突起ごとに1個存在し、さらに毛包幹細胞が毛包内の立毛筋附着部付近の膨大部(バルジ)に複数存在する。毛包幹細胞は通常は毛に分化する上皮細胞を供給するが、傷害時には表皮や皮脂腺など皮膚付属器も再生させることのできる多能性幹細胞である。バルジ直下には色素細胞の幹細胞が存在することも知られている。真皮には線維芽細胞が存在して細胞外基質の新陳代謝を司るとともに、毛包や血管近辺に間葉系の多能性幹細胞が少数存在している。

脂肪組織には脂肪細胞や血管内皮細胞になる前駆(幹)細胞が、毛細血管に壁細胞のように多数存在している<sup>1)</sup>。さらに血管の周囲に上位の多能性幹細胞が存在する。脂肪

組織は脂肪吸引で大量に採取可能であるとともに多くの間葉系多能性幹細胞(ASC)が単離できるため、培養せずにminimal manipulationでの臨床応用が可能で、骨髄に代わる組織幹細胞源として注目されている。

### 3. 組織傷害時の修復機構とその応用

傷害時には、炎症を伴う組織の修復反応が惹起され、組織のリモデリングが誘導されることによって新鮮な状態に置換される(創傷治癒)。傷害後に活性化する局所の幹細胞・前駆細胞や、血行性にリクルートされる炎症細胞や骨髄由来前駆細胞群が主役となって、組織の再生リモデリングを司る(図1)。この修復過程においては、断裂した細胞外基質や死細胞から増殖因子や酵素および多数のシグナル因子が放出されるとともに、出血時の血小板凝集により血小板由来の数々の因子(PDGF, EGF, TGF $\beta$ など)も同時に放出される。これらの一次因子群は前駆細胞・幹細胞を活性化させるとともに、幹細胞からの二次因子群の産生・分泌を促す<sup>2)</sup>。こうした修復反応を恣意的に誘導することによる再生治療も存在する<sup>3)</sup>。皮膚のリサーフェシングとは、あえて表面から皮膚を機械的にもしくは化学的にピーリングすることにより、病的な表皮・真皮を新生したものと置換させる。

一方、幹細胞が集簇する骨膜や軟骨膜の活性化を利用する再生誘導もある。血腫は副次的に軟骨(柔道耳)や骨(骨腫)を形成することが知られている。これらは望ましくない現象ではあるが、原理を治療に応用できる。つまり、骨切り部分に幹細胞を誘導させて、スペースを作ることによって骨延長が可能となる。骨膜周囲にヒアルロン酸を注射することにより、骨膜の幹細胞を活性化して、仮骨(骨化)や線維化を誘導して治療に役立てることもできる<sup>4)</sup>(図2)。

#### ■ 著者連絡先

自治医科大学形成外科

(〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1)

E-mail. kotaro-yoshimura@umin.ac.jp

## 組織傷害による再生誘導

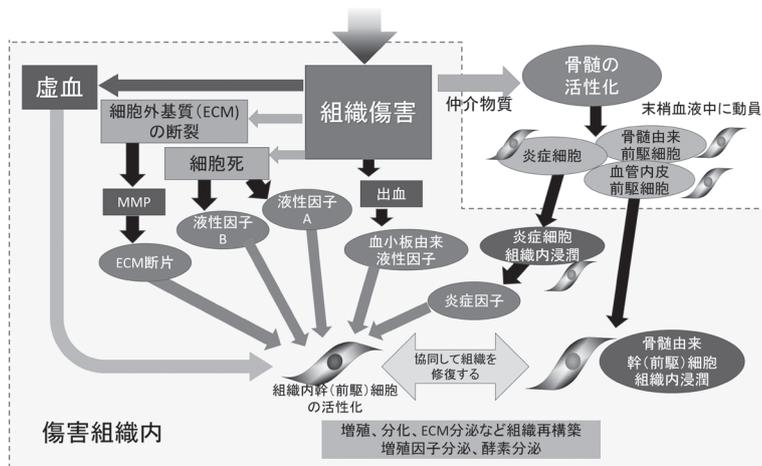


図1 外傷などの組織損傷を起点とする組織再構築のメカニズム

組織傷害により、細胞死、細胞外基質 (ECM) 断裂、および出血の3要素により、損傷部位に増殖因子などの液性因子が現れ、一次的に組織内の幹 (前駆) 細胞が活性化される。これらの因子は一次因子であり、mRNAを通して作られるのではなく、すでに作られて不活化した状態で蓄えられているために、緊急事態においても瞬時に効果を出すことが可能となる。さらに、虚血 (低酸素) や炎症細胞浸潤などによっても組織前駆 (幹) 細胞は二次的に活性化される。一方で、組織傷害は仲介物質によって、骨髄を活性化し、多くの炎症細胞とともに間葉系をはじめとする前駆 (幹) 細胞が末梢血中に mobilize され、損傷部位に浸潤して、創傷治癒に関与する。

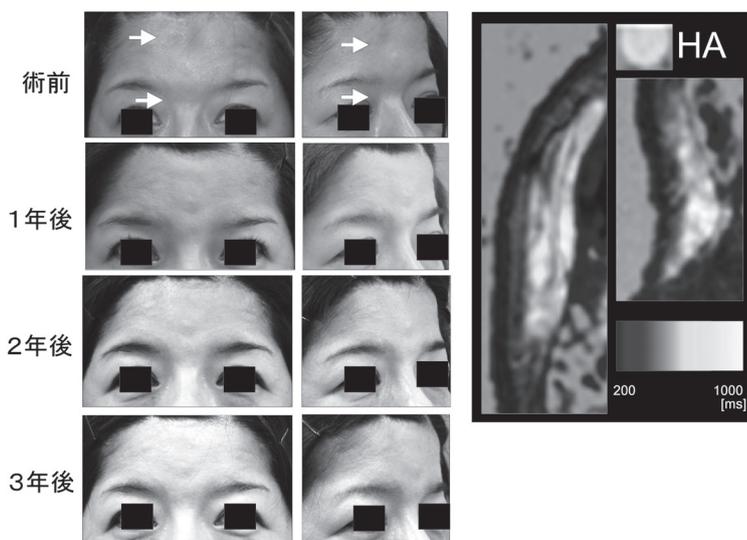


図2 ヒアルロン酸の骨髄注入による前頭骨変形の治療後の長期術後経過

(左) 上から、治療前、治療後1, 2, 3年後。(右) 1年後のMRIのT2マッピング画像。注入したヒアルロン酸は骨髄の幹細胞を活性化して、石灰化を含む自家組織と置換され、永続的な効果を実現する。(文献4より転載改変)

## 4. 機械的外力を利用する再生誘導

妊娠や肥満および月経周期などで、二次的に皮膚や皮下組織が拡張したり、加齢により皮膚が伸展して下垂が起こるのは、機械的な外力により組織の新生がみられるためである。このような機械的外力を恣意的に与えることによって、再生を誘導することも可能である (図3)<sup>5)</sup>。治療法としては、皮下に埋入して内側からの陽圧で組織の拡張を行うティッシュエキスパンダー (組織拡張器) が代表例である。外的陰圧は、VAC®システムやBRAVA® (陰圧で組織を拡張する) に応用されている。

## 5. 体表組織の量的・形態的修復

体表組織の欠損は、交通事故などの外傷やがん切除手術

などで生じる。先天奇形や後天性疾患 (線維性疾患, 萎縮性自己免疫疾患など) で生じる場合もある。乳腺全摘後の乳房欠損では、シリコンジェル人工乳房による再建も保険適用になっている (図4)。しかし人工乳房はあくまで組織量と形態のみを部分的に回復するもので、本来の乳腺や皮下組織が持つ機能はまったくない。

一般的に頭頸部や乳房など体表のがんの切除後ではマイクロサージャリーを使った遊離組織移植を用いて再建するが多い。しかし、皮膚の欠損や不足がない場合には皮膚切開をせずに、皮下脂肪組織の注入移植を行うことも可能である。放射線治療がなければ、皮膚の不足がある場合でも組織拡張器で伸ばすことも可能である。このような脂肪注入移植では、腹部、腰部や大腿などから径3 mm程度のカニューレで皮下脂肪を破碎して吸引する。吸引脂肪

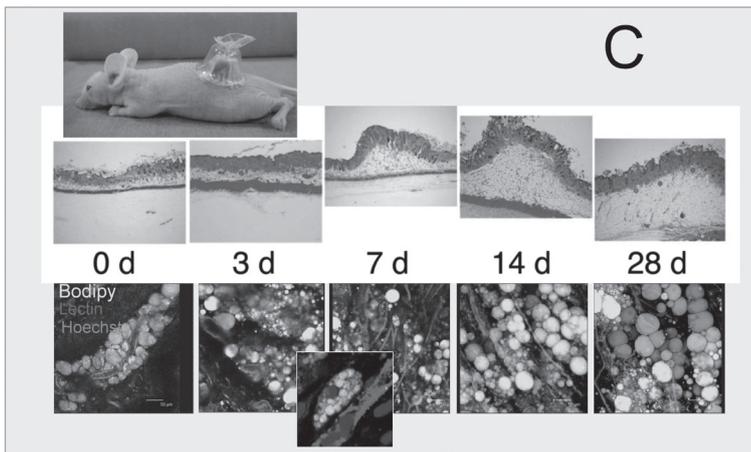
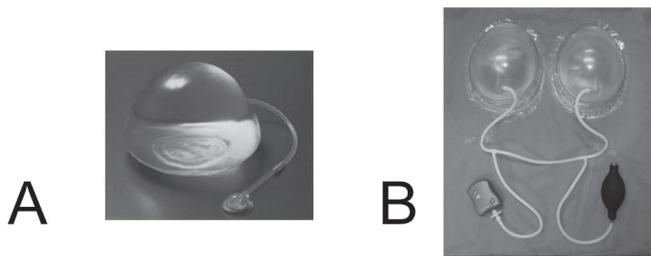


図3 機械的外力による再生誘導

機械的外力は細胞内に受容体を通してシグナル伝達され、前駆(幹)細胞を活性化する。実際に臨床的に大きな効果がみられることが知られている。A) 組織拡張器(ティッシュエキスパンダー)による内側からの組織拡張。B) BRAVA®を用いることにより、乳房に対する外側からの組織拡張も行える。C) マウスの実験における外側からの機械的外力による組織再生誘導。機械的外力により組織内の幹細胞が活性化され分裂を開始する。開始後数日で脂肪新生や血管新生など激しい組織のリモデリングが観察された(文献5より転載改変)。



図4 人工乳房を使った乳房再建

(左) 乳腺全摘後の再建前の状態。(中央) 人工乳房による再建術後の状態。(右) 人工乳房(コヒーシブシリコンジェルインプラント)は2013年より保険適用になった。

は特殊なシリンジで注入移植されるが、血流がない組織であるため、生着には2 mm程度の大きさで移植される必要がある。移植した脂肪細胞は、移植後に阻血によりすぐに壊死するが、傍の脂肪前駆細胞が新しい脂肪細胞に成長することにより組織を再生させて、結果的に移植生着となる<sup>6)</sup>。

こうした脂肪注入移植を組織の量的・形態的修復に用いる場合には、移植する脂肪組織内の脂肪細胞だけでなく、再生の源となる前駆(幹)細胞の存在が臨床効果に影響する。吸引脂肪組織は正常脂肪組織に比べて前駆細胞数が少ないため、別に採取した脂肪組織から前駆細胞を単離して前駆細胞リッチな移植材料として移植する方法(cell-

assisted lipotransfer: CAL) (図5) や、逆に機械的な処理で脂肪細胞のみを部分的に取り除いた濃縮脂肪の移植が行われている<sup>7)</sup> (図6)。吸引脂肪組織から脂肪前駆(幹)細胞を含む間質血管細胞群(SVF)を採取するには、コラゲナーゼ処理を行い90分程度で可能である(図7)。SVFはそのまま新鮮な状態で使用される場合もあれば、培養して脂肪前駆細胞に純化して利用される場合もある。

## 6. 体表組織の質的修復

体表組織において、消耗性幹細胞欠乏状態と呼べる病的状態がある(図8)。たとえば、放射線照射組織は、急性傷害とは無関係に、時間経過とともに進行性の組織の阻血や

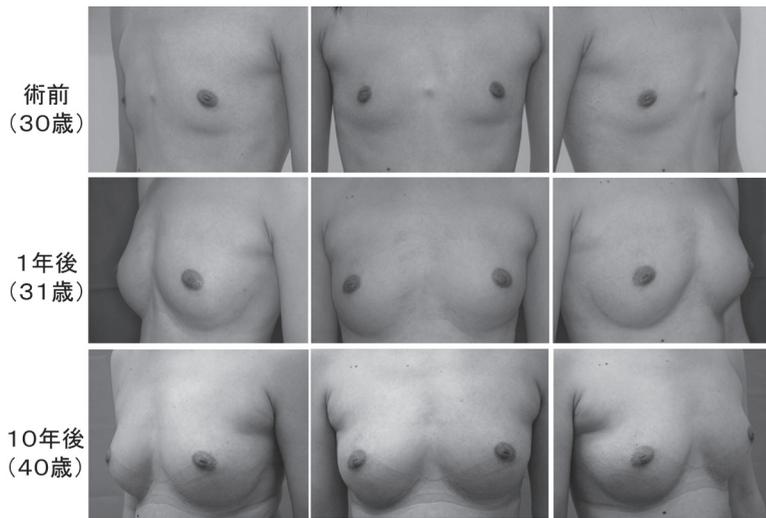


図5 幹細胞付加脂肪移植術 (cell-assisted lipotransfer) を用いた豊胸術の長期術後経過 (上)術前, (中)1年後, (下)10年後の状態。

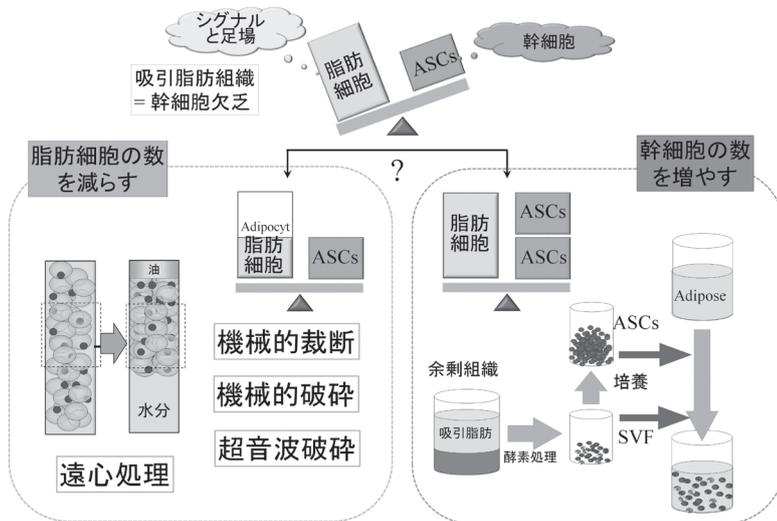


図6 吸引脂肪組織の濃縮方法

吸引脂肪組織は血管組織に乏しく、正常脂肪組織に比べて幹細胞の含有数が少ない。組織内の幹細胞の濃縮を図ることにより、移植後の生着・再生の改善を目指す。(左)機械的な処理により脂肪細胞が部分的に取り除かれ、体積も減るが、幹細胞は温存される。(右)余分な吸引脂肪組織から、酵素処理を経て、SVFもしくは培養したASCを添加することにより、脂肪組織の濃縮を図る。

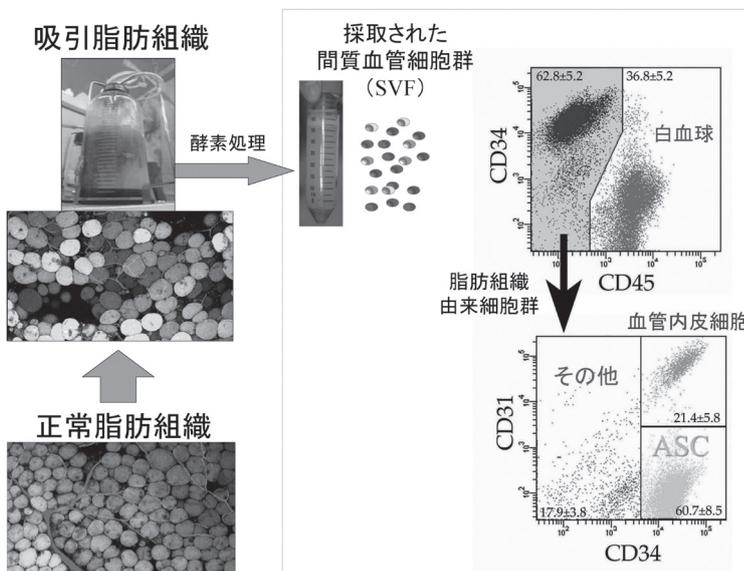


図7 吸引脂肪組織から採取されるSVFのフローサイトメトリ解析

脂肪吸引によって採取される吸引脂肪組織は、正常脂肪組織に比べて血管や間質が乏しく、脂肪間質細胞 (ASC) が少ない。吸引脂肪組織を酵素処理することで、脂肪細胞以外の細胞集団、すなわちSVFを回収することができる。SVFは不均一な細胞集団で、脂肪由来細胞 (CD45-) と末梢血由来細胞 (CD45+) から成る。血液由来細胞の割合は術中の出血量に左右される。CD31、CD34、CD45の発現により、SVFを4種類に分類できる。脂肪組織由来細胞の多くはCD34陽性で、CD34陽性細胞はASC (CD31陰性) と血管内皮細胞 (CD31陽性) に分けることができる。SVFを接着培養することにより、ASCを精製、増殖させることができる。



図8 幹細胞の欠乏状態

組織内の幹細胞は、放射線照射、慢性炎症、組織欠損などによって失われる。強皮症やエリテマトーデスなどの自己免疫疾患、三度熱傷、肥厚性瘢痕なども、幹細胞が消耗性に不足しており、組織の線維化、萎縮がみられ、虚血状態である。こうした病的組織は、幹細胞やそれを含む組織の移植により、元の状態に近づけることができ、組織の予備能、治癒能が回復し、血行も良くなる。

線維化がみられ、さらに照射量によっては数年をかけて組織の萎縮や石灰化が進行する。重症の場合は、皮膚潰瘍や骨髄炎をもたらす。糖尿病やバージャー病などの虚血下肢に生じる皮膚潰瘍や足壊死、自己免疫疾患に伴う慢性炎症やその後の線維性変化、組織萎縮なども同様である。程度の差はあるものの共通しているのは、阻血、萎縮、線維化および治癒能(予備能)の低下である<sup>3)</sup>。

このような組織の質的な病的状態が、脂肪移植によって部分的に回復することが経験的に知られており、その臨床効果は移植組織に含まれている脂肪前駆(幹)細胞や血管内皮細胞に由来すると考えられている。たとえば、脂肪移植をすることにより、虚血下肢の血流が良くなり、放射線皮膚潰瘍の自然治癒が促される<sup>8)</sup>。絞扼性の神経痛が改善したり、リンパ浮腫が軽減する作用も報告されている。伸展性や治癒能に欠ける組織の機能が部分的に正常化されるなど、血行の改善を含む組織の質的改善が認められている。

同様の効果が、単離されたSVFや培養したASCなどでも実験的に、また一部は臨床的にも再現されている。さらに、脂肪組織から脂肪細胞をある程度取り除いた間質中心の破碎組織の投与でも、実験的には同様の効果が得られている<sup>9)</sup>。このように、脂肪組織は、その利用目的(組織の量的な修復なのか質的な修復なのか、さらには幹細胞の持つ抗炎症作用を期待するのか)によって、そこに存在するさまざまな細胞や構成物を利用できる可能性が示唆されてい

る。

## 7. その他の皮膚の再生医療

その他の皮膚の再生医療には、①やけどなどの皮膚欠損の修復や、白斑の治療を目的とした培養表皮移植や単離表皮角化細胞移植、②シワなどの改善を目的とした線維芽細胞移植や増殖因子投与、③毛髪再生を目的とした細胞(毛乳頭細胞など)移植などがあげられる。

①については、自家の培養表皮角化細胞シートが、ジェイス®として重症熱傷患者を適応として、すでに上市されている。真皮がないこともあり、再生した皮膚の機能には限界がある。培養した表皮角化細胞の懸濁液のスプレー塗布も行われているが、一般化には至っていない。

②については、培養した皮膚線維芽細胞の注射、末梢血から作成した多血小板血漿(PRP)(図9)や細胞培養上清の注入(いずれも増殖因子カクテルとして)、fibroblast growth factor (FGF)-2(本来は難治性慢性潰瘍を対象に承認されている外用液フィブラスト®スプレー)の注入などが、美容目的などで行われているが、一般化していない。架橋型ヒアルロン酸注入充填剤(レスチレン®リド)やボトックスビスタ(A型ボツリヌス毒素)が同様の目的で一般化している。

③については、自家培養毛乳頭細胞の移植や、表皮幹細胞と混合した器官原基移植などさまざまな形で研究が行わ

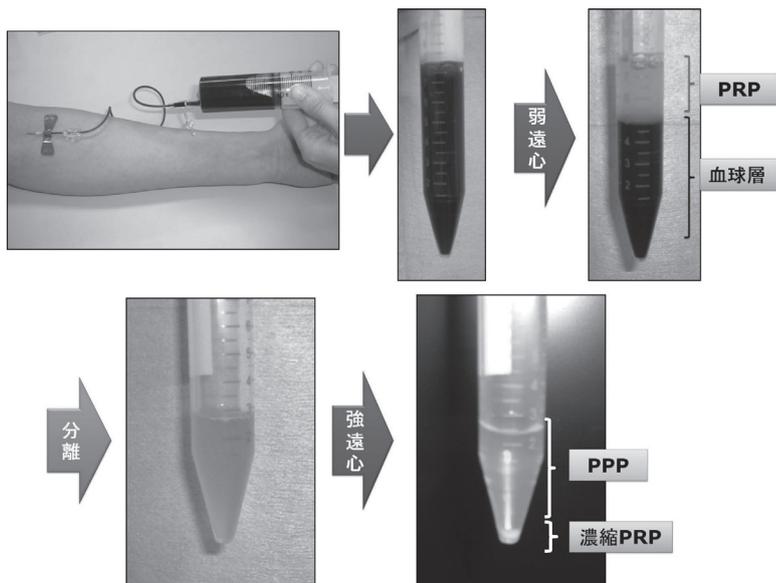


図9 濃縮 PRP の作製法の一例

低回転の 1st spin (230~270×g) で赤血球・白血球を可及的に取り除き、上清として PRP を得る。高回転の 2nd spin で血小板を沈殿させて、上清の少血小板血漿 (PPP) を取り除いて、濃縮 PRP を得る。血小板の凝集を防ぐために EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) もしくは ACD (acid-citrate-dextrose) 液を用いる。

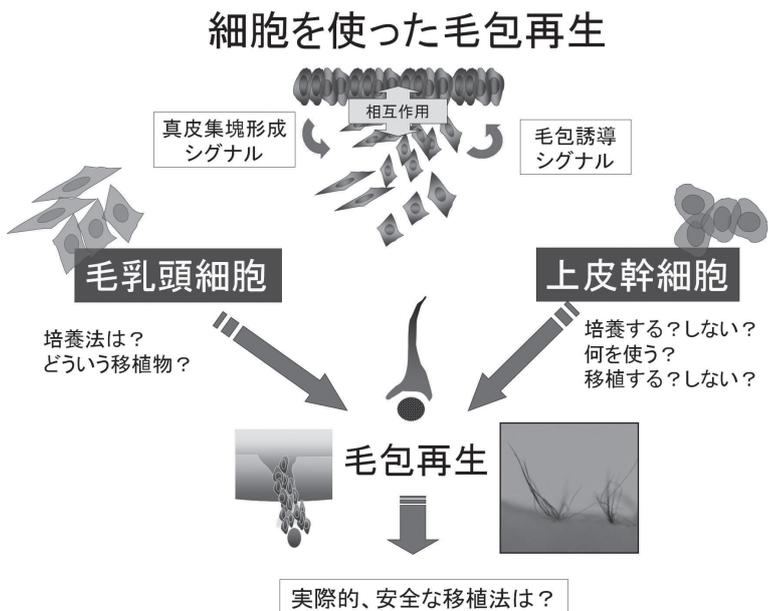


図10 細胞治療による毛包再生の模式図

間葉成分 (毛乳頭細胞) と上皮成分 (上皮系幹細胞) の相互作用により、毛包が形成される。成長期毛包では、毛乳頭細胞は毛球部において上皮細胞が毛に最終分化するためのシグナルを送るが、男性型脱毛症では毛乳頭細胞のその機能が障害され毛包の休止期が継続することが知られている。

れ、その一部は臨床研究も行われたが、まだ成功していない(図10)。毛髪の成長には上皮系、間葉系の相互作用が必須であり、禿髪においてはその片方(男性型脱毛症)、もしくは両方(瘢痕性脱毛症)が障害を受けている。自家植毛術(後頭部から禿髪部に1本ずつ移植する方法だが、治療可能範囲が限られている)と異なり、極少数の毛包から多数の毛髪を再生する研究が行われている。最近はいPS (induced pluripotent stem) 細胞から、機能が維持された上皮幹細胞や毛乳頭細胞を作る技術が報告され、注目されている。

## 8. おわりに

体表の再建においても、再生医療を含めさまざまな治療アプローチが試みられている。無細胞化した真皮 (Alloderm®ほか) は、米国では乳房再建における人工乳房をカバーする目的で広く使用され、その有効性は高く評価されている。脂肪組織を無細胞化したシートや顆粒も臨床研究が始まっている。こうした細胞外基質や増殖因子は他家由来の利用も一般化しており、さまざまな組織やその派生物のバンキング技術も進歩している。抗炎症目的では培養幹細胞の他家利用も広がっており、今後の研究の成果が

期待されている。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

## 文 献

- 1) Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al: Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* **7**: 211-28, 2001
- 2) Yoshimura K, Suga H, Eto H: Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med* **4**: 265-73, 2009
- 3) Yoshimura K, Eto H, Kato H, et al: In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med* **6**(6 Suppl): 33-41, 2011
- 4) Mashiko T, Mori H, Kato H, et al: Semipermanent volumization by an absorbable filler: onlay injection technique to the bone. *Plast Reconstr Surg Glob Open* **1**: e4-14, 2013
- 5) Kato H, Suga H, Eto H, et al: Reversible adipose tissue enlargement induced by external tissue suspension: possible contribution of basic fibroblast growth factor in the preservation of enlarged tissue. *Tissue Eng Part A* **16**: 2029-40, 2010
- 6) Kato H, Minoda K, Eto H, et al: Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plast Reconstr Surg* **133**: 303e-3e, 2014
- 7) Kuno S, Yoshimura K: Condensation of tissue and stem cells for fat grafting. *Clin Plast Surg* **42**:191-7, 2015
- 8) Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al: Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg* **119**: 1409-22, 2007
- 9) Feng J, Doi K, Kuno S, et al: Micronized cellular adipose matrix as a therapeutic injectable for diabetic ulcer. *Regen Med* **10**: 699-708, 2015