

皮膚の再生・最近の進歩

京都大学大学院医学研究科形成外科学

森本 尚樹

Naoki MORIMOTO



1. はじめに

日本人工臓器学会から皮膚再生に関する原稿依頼をいただき、少し驚いた。私は形成外科臨床医で、皮膚再生を研究・臨床を行っている。私が皮膚再生研究を始めたのは2000年頃からで、当時は皮膚も人工臓器として、あるいは工学的研究、再生医療の対象とされていたが、その後徐々に、皮膚は研究対象とされなくなってきたと感じていたからである。ご存じのように皮膚再生の歴史は長く、1970年代にGreenらによって培養表皮の作製方法が確立され、1990年前後から自家培養表皮の製品化が各国で進んだ^{1),2)}。また、1980年に二層性人工皮膚(コラーゲンとシリコーンシートの二層構造)を用いた疑似真皮の再建方法がYannasらによって考案され、1990年代には各国で製品化された^{3),4)}。私が研究を開始した2000年頃は、これらの製品が世界各国で臨床応用され始めた頃で、その成果が注目されていたのだと思うが、その一方で、「皮膚再生は可能となった、したがって研究対象ではない」との認識が研究者の中で広まったのだと感じている。臨床面では、本当の意味で皮膚欠損のために致命的となる全身熱傷症例が、労働災害管理の徹底や家庭での安全対策が進んだことから世界的に少なくなり、皮膚再生に対する臨床側の要求も少なくなってきた。これと共に皮膚再生に対する臨床的な要求も徐々に変化し、人口の高齢化、世界的な肥満人口の増加に伴い、糖尿病性潰瘍や静脈うっ滞性潰瘍などの難治性皮膚科潰瘍(4週間あるいは6週間以上治癒しない皮膚潰瘍)の患者が世界的に急増した。難治性潰瘍治療では、全

身熱傷治療のように体表面積の5~10%以上(手掌の面積が体表面積の約1%)の大きな皮膚を短期間で再生させる必要はなく、体表面積の数%程度の大きさの潰瘍に肉芽を誘導し、数ヶ月以上かけてもよいので治癒させることが目的となる。この治療目的のシフトと共に、皮膚は人工臓器としての興味を持たれなくなったとも考えている。

本稿では、皮膚再生の課題を主に真皮再生から振り返り、いまだに達成されない皮膚再生(全身熱傷など)と、急速に改善された肉芽誘導(難治性潰瘍治療)に分けて、主に臨床的な観点から述べたいと考えている。

2. 表皮の再生

1970年代にGreenらによって考案された、3T3フィーダーレイヤーを用いた培養表皮作製方法は今も標準的に使用されており、世界各国で自家培養表皮(患者の皮膚を採取し培養)が製品化され、全身熱傷患者に使用されている。本邦では、他国よりやや遅れ、自家培養表皮[ジェイス®、ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング社]が2007年に全身熱傷に対して薬事承認され、2009年より保険適用となった²⁾。この後、他国にはない展開、すなわち2016年に先天性巨大色素性母斑、2019年に先天性表皮水疱症に保険適用が追加された^{2),5)}。ジェイス®の保険償還に対する価格は、皮膚採取時に446万円、これに加えて1枚(10 cm × 9 cm)ごとに15万4千円と高価で、本邦で標準治療として使用できているのは健康保険制度のおかげだと考えている。海外でも自家培養表皮はジェイス®と同等以上の価格で、高価であるため、適用範囲が厳格化されているのが現状である。本邦での承認以降の自家培養表皮使用症例は1,000例程度となっており、世界では数千例以上使用されていると考えられる。

近年、自家培養表皮の使用症例が蓄積されるにつれて、

■ 著者連絡先

京都大学大学院医学研究科形成外科学

(〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町54)

E-mail: mnaoki22@kuhp.kyoto-u.ac.jp

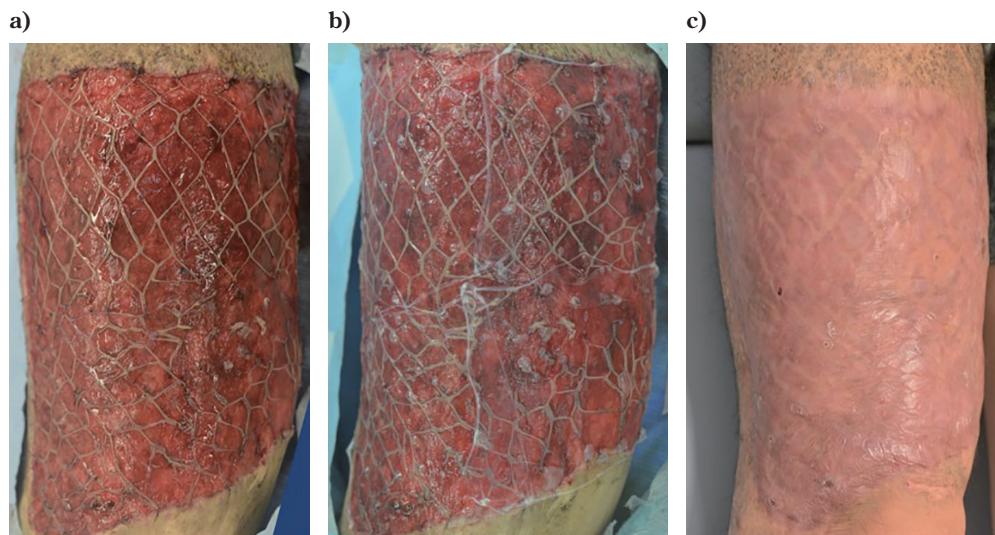


図1 ハイブリッド移植 (6倍メッシュ植皮+ジェイス®移植) の経過

a) 6倍メッシュ植皮移植後：網状の皮膚が6倍に拡張された自家植皮，b) ジェイス®移植後：薄膜状のジェイス®がメッシュ植皮上に移植されている，c) 9ヶ月後：メッシュの網目が残る状態

使用成績も明らかとなってきた。自家培養表皮は，自家真皮が残存している場合には80%以上生着するが，真皮が欠損した脂肪層や筋膜の上には20%程度しか生着しないことが，以前より報告されている⁶⁾。したがって，真皮の再建を行うために，屍体より採取した同種皮膚（凍結保存もしくはグリセロール浸漬冷蔵保存）を移植し，再建した真皮上に自家培養表皮を移植するCuono法が重症熱傷患者の標準治療とされてきた⁷⁾。しかし，2010年以降にこの治療法の見直しが進み，同種皮膚上に自家培養表皮を移植しても，拒絶反応などのために生着が不良である，という認識が進んだ⁸⁾。このため現在は，同種皮膚は一時的な被覆材として使用されている。同種皮膚以外で，真皮再生に用いられる材料は，コラーゲンスポンジとシリコーンシートの二層構造をもつ人工真皮〔ペルナック®（ゲンゼ），インテグラ®（Integra Lifesciences），テルダーミス®（オリンパステルモバイオマテリアル）など〕になるが，ジェイス®使用成績調査によって，人工真皮で再建した疑似真皮上へのジェイス®の成績も不良であることが判明した⁹⁾。これらのことから，真皮の再生はいまだに達成されていないと考えられる。このような自家培養表皮の生着率の悪さから，重層化させていない表皮細胞を播種し，創部で重層化させる方が上皮化に繋がるのではないかと，この考えもあり，自家皮膚を採取し，酵素処理によって表皮細胞スプレーを製作する医療機器〔RECELL®（Avita Medical），米国で2002年承認〕¹⁰⁾が見直されており，本邦での承認も間近となっている（2020年7月現在）。

以上のように，効果的な真皮方法がない現状で，自家培

養表皮を生着させる方法として最も標準的に行われているのがハイブリッド移植である（図1）。3倍から6倍の自家分層メッシュ植皮を行い，この自家植皮の上に自家培養表皮を移植する方法で，本邦あるいは米国でも同時期に報告されている^{9),11)}。メッシュ植皮の隙間に自家培養表皮が生着するのか，あるいは植皮から表皮が早期に進展するのか，いまだに議論があるが，この方法を行うと自家培養表皮が生着し，表皮化が早いことが報告されている^{9),11)}。ただし，植皮が安定して生着してもメッシュ状の瘢痕が残ることが課題である（図1c）。この方法が，現状の自家培養表皮を用いた標準的な皮膚再生治療であり，採取した皮膚の数倍から6倍程度の皮膚欠損を修復する方法である。残念ながら，自家植皮が全く採取できない場合には皮膚の再生はできない。

同種細胞（他人の皮膚由来，通常は割礼で切除される包皮など）を用いた同種培養表皮も，海外で製品化されている。韓国のKaloderm®（Tego Science）は凍結保存され，ready-to-useである¹²⁾。同種細胞なので生着はしないが，熱傷，糖尿病性潰瘍，表皮水疱症などに対して，細胞が持っている細胞成長因子等の効果で治癒促進効果を期待され，使用されている。本邦でも，ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング社と京都大学形成外科が共同して，日本人由来の細胞を用いた同種培養表皮製品を開発している。

3. 真皮の再生

真皮再生について，前記で触れたが，永久生着すると言われていた同種皮膚が，実際には拒絶され，生着しないこ

表1 本邦で承認されている人工真皮製品

製品名	ペルナック® (ペルナックGプラス®)	テルダーミス®	インテグラ®	OASIS®細胞外 マトリックス
シリコン層の厚み	150 μ m	60～100 μ m	250 μ m	なし
基材	アテロコラーゲン (ブタ腱由来) (Gプラス：ブタ皮膚由来 ゼラチン10%添加)	繊維性、熱変性 アテロコラーゲン (ウシ真皮由来)	ウシコラーゲン (ウシ腱由来) グリコサミノグリカン	ブタ小腸粘膜下組織
架橋	熱架橋、化学架橋	熱架橋のみ	熱架橋、化学架橋	なし
ポアサイズ	70～110 μ m	100～300 μ m	70～200 μ m	なし
コラーゲン層の厚み	3 mm	3 mm	1 mm	0.1～0.2 mm

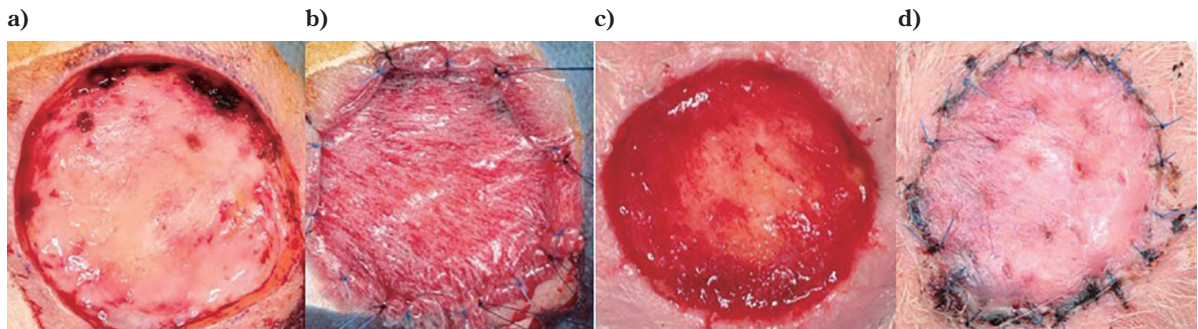


図2 二層性人工真皮(ペルナック®)の臨床症例

a) 頭部腫瘍切除後全層皮膚欠損, b) 人工真皮貼付直後, c) 貼付15日目(疑似真皮形成), d) 皮膚移植1週後

とが明らかとなった⁸⁾。他人からの臓器移植、形成外科分野で実施されている同種顔面移植、同種手移植などの大きな組織移植では免疫抑制剤が使用されているが、同種皮膚移植では使用されていない。これは、免疫抑制剤による全身的な合併症が危惧されるからである。このため、炎症を惹起させないために、同種細胞を取り除いた脱細胞化同種真皮(ALLODERM™, Allergan)が製品化されている^{13),14)}。当初は分層皮膚と同時移植して、真皮層を増量させることで、皮膚の柔らかさ、弾性、外観などを改善する目的に使用されていた¹³⁾。しかし、脱細胞化皮膚の長期的な成績についてはまだ確定しておらず、我々がブタを用いて行った脱細胞化同種皮膚と、細胞のみ死滅させた自家高压処置皮膚の皮下埋植モデルでの検討では、脱細胞化同種皮膚は埋植12週後にほとんど吸収されてしまった¹⁵⁾。臨床症例の報告でも、脱細胞化同種皮膚を移植し、この上に自家培養表皮を移植した、という症例報告も1例のみしかなく、脱細胞化同種皮膚を用いて真皮再生を行うという治療法は一般には行われていない¹⁶⁾。

また、二層性人工真皮について、海外ではヒアルロン酸スポンジなども市販されているが、本邦では動物由来コラーゲンスポンジとシリコン層に二層性人工真皮が使用

されている(表1)。OASIS®細胞外マトリックス(Cook Medical)は、ブタ小腸粘膜下組織であり、創傷被覆材として用いられるため、一般的には真皮再構築には用いられていない¹⁷⁾。二層性人工真皮を創面に貼付すると、2週間から3週間で線維芽細胞や毛細血管が侵入し、疑似真皮が形成される(図2a, b)。この疑似真皮の上に皮膚移植を行うと生着率が良好となり、真皮の厚みも補填されると報告されている(図2c, d)¹⁸⁾。しかしながら、前項でも触れたように、人工真皮で再建した疑似真皮上への培養表皮の生着は不良であり、dermis like tissue(疑似真皮)といわれている人工真皮を用いて再生させた組織は、表皮の支持組織としての真皮にはなっておらず、次項で説明する肉芽組織であると考えている。

4. 肉芽誘導

肉芽は、創傷治癒過程にみられる毛細血管、線維芽細胞、マクロファージなど、細胞成分に富んだ赤色の結合組織である。慢性潰瘍で肉芽が形成されていない場合は上皮化が進まないが、肉芽が形成されると上皮化が進み、創閉鎖が進む(図3)¹⁹⁾。近年、糖尿病患者は激増しており、2019年の世界の糖尿病患者は4億6千万人以上²⁰⁾、糖尿病患者の

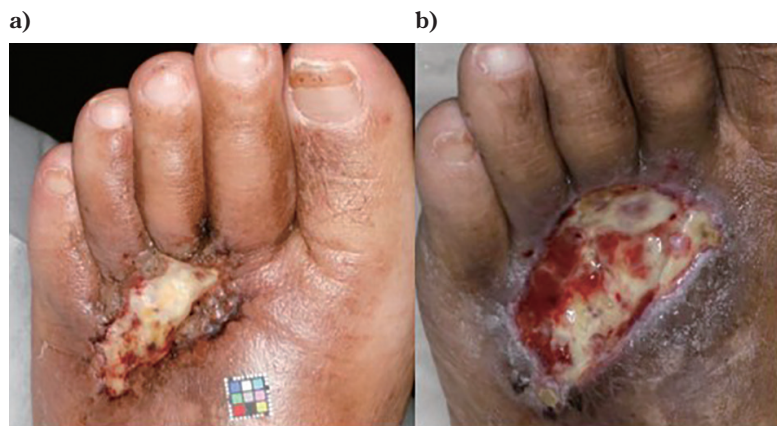


図3 糖尿病性潰瘍
a) 創面に肉芽はみられない, b) 肉芽(赤い部分)が一部形成

表2 肉芽形成を促進させる医薬品, 細胞製品, 医療機器

一般名	塩基性線維芽細胞増殖因子	NPWT (negative pressure wound therapy)	培養皮膚	同種羊膜・絨毛膜
製品名	フィブラスト®スプレー (科研製薬)	V.A.C®therapy (ケーシーアイ), RENASYS®創傷治療システム (Smith & Nephew Japan), など	Apligraf® Dermagraft® (Organogenesis) など	Epifix® (MiMedx)
分類	医薬品	医療機器	再生医療等製品 (本邦未承認)	医療機器 (本邦未承認)
作用機序	線維芽細胞増殖, 血管新生促進	創面を-80~-125 mmHgで持続吸引し, 肉芽を増成, 創を収縮	培養皮膚に含まれる生細胞から放出される成長因子, 細胞外マトリックスなどで 肉芽形成, 上皮化促進	放出される成長因子, および基材による創の 湿潤環境維持
同効品	PRP (platelet rich plasma) 多血小板血漿		同種培養表皮 (Kaloderm®など)	OASIS®細胞外マトリックス, MatriStem® (ACell) (ブタ膀胱由来マトリックス) など

足潰瘍有病率は0.7%~10%と報告され, これらの足潰瘍を持つ患者の7%~20%が足切断に至ると報告されている²¹⁾。つまり, 糖尿病性足潰瘍の治療は世界的な課題となっており, この課題を解決するために様々な細胞製剤, 医療機器が開発されてきている(表2)²²⁾。塩基性線維芽細胞増殖因子や多血小板血漿などの細胞増殖因子, 生細胞を含む培養皮膚, 同種羊膜製材やブタ組織由来製品などは, 細胞成長因子や細胞外マトリックスを創面に供給することで, 肉芽が増成されることを目的としている。NPWTは物理療法であり, 創面を陰圧で持続的に吸引することで, 浸出液の除去と共に細胞増殖, 血管新生を促進するとされている。

これらの治療は肉芽形成を促進し, 肉芽が形成された後は, 保存的に上皮化させて創を治癒させる, あるいは肉芽組織の上に皮膚移植を行うことを目的としている。繰り返

しになるが, これらの肉芽の上への自家培養表皮の生着率は, 熱傷創で報告される限り不良であり⁹⁾, 2020年7月現在のところ, 自家培養表皮が生着する母床としての真皮は再生できていない。つまり, 皮膚再生の現状は, 難治性潰瘍になんとか肉芽を誘導することができるようになった, という段階にすぎないのである。

5. 皮膚再生への取り組み

皮膚再生は, 最終的には皮膚付属器(毛, 汗腺, 脂腺など)の再生も必要になるが, まだ有用な方法は臨床化されていない。最近, バイオプリンターを用いた組織構築が多数報告されているが²³⁾, この手法でできるものは肉芽組織であり, 本当の真皮は再生できないと私は考えている。私自身の取り組みとしては, 国立循環器病センター生体医工学部

長・山岡哲二先生と共同で、皮膚腫瘍である先天性巨大色素性母斑を除去し、200 MPaの高圧処置によって組織中の細胞を死滅させた後に、患者に戻し移植し、真皮再生を行い、この再生真皮の上に自家培養表皮を移植する再生医療に取り組んでいる^{24),25)}。また、direct conversionによって皮膚を再生させる取り組みもされている²⁶⁾。

6. おわりに

創傷治癒過程の理解は確実に発展し、この20年で様々な新規治療が臨床応用されてきた。ただし、ヒトに移植し、そのまま生着し、機能する人工皮膚・培養皮膚はいまだに作製されていない。解決の鍵は十分な強度を持つ真皮再生にあると考えている。近い将来、真皮の再生が可能となり、全身熱傷や先天性巨大色素性母斑あるいは難治性潰瘍の方の治療がどこでも、簡単にできるようになることを目標とし、今後も臨床・研究を続けたいと考えている。

利益相反の開示

森本尚樹：研究費(株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング)

文 献

- 1) Rheinwald JG, Green H: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* **6**: 331-43, 1975
- 2) Hayashi M, Muramatsu H, Nakano M, et al: Experience of using cultured epithelial autografts for the extensive burn wounds in eight patients. *Ann Plast Surg* **73**: 25-9, 2014
- 3) Dagalakis N, Flink J, Stasikelis P, et al: Design of an artificial skin. Part III. Control of pore structure. *J Biomed Mater Res* **14**: 511-28, 1980
- 4) Yannas IV, Orgill DP, Burke JF: Template for skin regeneration. *Plast Reconstr Surg* **127** Suppl 1: 60S-70S, 2011
- 5) 指定再生医療等製品ジェイス®添付文書第11版
- 6) Shevchenko RV, James SL, James SE: A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *J R Soc Interface* **7**: 229-58, 2010
- 7) Cuono C, Langdon R, McGuire J: Use of cultured epidermal autografts and dermal allografts as skin replacement after burn injury. *Lancet* **1**: 1123-4, 1986
- 8) Paggiaro AO, Bastianelli R, Carvalho VF, et al: Is allograft skin, the gold-standard for burn skin substitute ?. A systematic literature review and meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* **72**: 1245-53, 2019
- 9) Matsumura H, Matsushima A, Ueyama M, et al: Application of the cultured epidermal autograft "JACE (®)" for treatment of severe burns: Results of a 6-year multicenter surveillance in Japan. *Burns* **42**: 769-76, 2016

- 10) Holmes IV JH, Molnar JA, Carter JE, et al: A Comparative Study of the ReCell® Device and Autologous Split-Thickness Meshed Skin Graft in the Treatment of Acute Burn Injuries. *J Burn Care Res* **39**: 694-702, 2018
- 11) Hayashi M, Yoshitake K, Tokunaka R, et al: Combination of meshed dermis graft and cultured epithelial autograft for massive burns: Three case reports. *Medicine (Baltimore)* **97**: e13313, 2018
- 12) Lee JS, Chu SG, Lee JW, et al: Application of Cultured Epidermal Homograft (Kaloderm) for Wide Scar Treatment. *J Craniofac Surg* **30**: e535-e9, 2019
- 13) Wester JL, Pittman AL, Lindau RH, et al: AlloDerm with split-thickness skin graft for coverage of the forearm free flap donor site. *Otolaryngol Head Neck Surg* **150**: 47-52, 2014
- 14) Gabriel A, Maxwell GP: AlloDerm RTU Integration and Clinical Outcomes When Used for Reconstructive Breast Surgery. *Plast Reconstr Surg Glob Open* **6**: e1744, 2018
- 15) Morimoto N, Mahara A, Jinno C, et al: The superiority of the autografts inactivated by high hydrostatic pressure to decellularized allografts in a porcine model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **105**: 2653-61, 2017
- 16) Chung KH, Kim TK, Cho BC, et al: Surgical treatment of aplasia cutis congenita with acellular dermal graft and cultured epithelial autograft. *Dermatol Surg* **35**: 546-9, 2009
- 17) Tchanque-Fossuo CN, Dahle SE, Lev-Tov H, et al: Cellular versus acellular matrix devices in the treatment of diabetic foot ulcers: Interim results of a comparative efficacy randomized controlled trial. *J Tissue Eng Regen Med* **13**: 1430-7, 2019
- 18) Morimoto N, Kakudo N, Valentin Notodihardjo P, et al: Comparison of neovascularization in dermal substitutes seeded with autologous fibroblasts or impregnated with bFGF applied to diabetic foot ulcers using laser Doppler imaging. *J Artif Organs* **17**: 352-7, 2014
- 19) Reinke JM, Sorg H: Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res* **49**: 35-43, 2012
- 20) 国際糖尿病連合：IDF 糖尿病アトラス 第9版, 2019
- 21) 日本糖尿病学会：糖尿病診療ガイドライン 2016
- 22) 森本尚樹. 創傷治療の現状と人工真皮のブレイクスルー. メディカルビュー社, 2019
- 23) Ng WL, Wang S, Yeong WY, et al: Skin Bioprinting: Impending Reality or Fantasy ?. *Trends Biotechnol* **34**: 689-99, 2016
- 24) Sakamoto M, Morimoto N, Jinno C, et al: Melanin pigments in the melanocytic nevus regress spontaneously after inactivation by high hydrostatic pressure. *PLoS One* **12**: e0186958, 2017
- 25) Morimoto N, Mahara A, Jinno C, et al: An evaluation of the engraftment and the blood flow of porcine skin autografts inactivated by high hydrostatic pressure. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **105**: 1091-101, 2017
- 26) Kurita M, Izpisua Belmonte JC, Suzuki K, et al: Development of de novo epithelialization method for treatment of cutaneous ulcers. *J Dermatol Sci* **95**: 8-12, 2019