

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10955

研究課題名(和文)自家培養表皮移植による乳輪乳頭の色素再建に関する研究

研究課題名(英文) Study in pigmentary regeneration for nipple areola by grafting autologous cultured epithelium

研究代表者

梶川 明義 (Kajikawa, Akiyoshi)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：70260495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌による乳房切除後の乳房再建は、インプラントによる再建が保険収載されるなど、患者のQOL向上に寄与している。しかし、現状乳房再建は可能であっても、乳頭乳輪再建には健常な乳輪乳頭に侵襲が及ぶなど改善すべき問題が多い。そこで今回、この乳頭乳輪の再建に、再生医療技術を応用し、色素細胞を含む培養表皮細胞移植による乳頭乳輪再生を試みた。

今回健常乳輪部分より極めてわずかな(1x5mm)皮膚を採取し、色素細胞を多く含む培養表皮の作成を可能にした。この色素細胞を豊富に含む培養表皮を、再建乳房のアブレーション後の皮膚移植することで良好な生着を得た。着色が弱い場合には光線療法等で対応可能であった。

研究成果の概要(英文)：Mammoplasty after mastectomy with breast cancer contributes to patient's QOL improvement, such as reconstruction by implant is insured. However, although the current mammoplasty is possible, the nipple areola reconstruction is invasive of a healthy areola. Therefore, in order to reconstruct this nipple areola, the regeneration of the nipple areola was tried to graft cultured epithelium containing melanocytes by using regenerative medical technology.

In this investigation, a few (1 × 5 mm) skin was collected from the healthy areola, making it possible to prepare a cultured epithelium containing a large amounts of melanocytes. Good engraftment was obtained by grafting this melanocyte rich cultured epithelium to the skin after ablation of the reconstructed breast. When pigmentation was weak, it was possible to improve with such as phototherapy.

研究分野：形成外科

キーワード：表皮細胞 乳輪乳頭再生 色素細胞 培養表皮シート 乳癌 乳房再建 移植

1. 研究開始当初の背景

現在、乳癌に対する全摘術は、乳輪乳頭温存乳房全摘術と皮膚温存乳房全摘術が多く行われている。2013年7月、人工乳房による乳房再建術が保険適応となり、乳癌術後の乳房再建は名実ともに医療として認められ、今後、増加するものと考えられる。乳房再建法には、自家組織によるもの、人工乳房(インプラント)によるものを含めて、多くの方法が研究・開発されてきたが、皮膚温存乳房全摘術後に乳房を再建しても、乳輪乳頭は欠損している。乳頭の形態は皮弁で再建可能で、健康保険の適応であるが、乳輪乳頭部の色素は再建できない。植皮による色素の再建には限界があり、実際には刺青によって色素を獲得することが多い。しかし、刺青は生理的でないだけでなく、経時的に色が薄くなることが多く、色素による合併症の可能性も否定できない。当教室では、1985年より教室内で作製した自家培養表皮の臨床応用を開始し、これまで広範囲熱傷の治療をはじめ、熱傷後瘢痕拘縮、巨大色素性母斑、尋常性白斑などの治療を行ってきた。この内、白斑の治療は、極めて効果的であるが、カラーマッチさせるための色の濃さのコントロールが難しい。本研究では、この白斑治療の技術を基礎として、カラーマッチさせる技術を樹立し、さらに色の濃い乳輪乳頭の色素を、色の濃さをコントロールしながら再建する方法を確立したいと考えていた。

2. 研究の目的

乳房全摘術後に自家組織や人工乳房(保険適応)で乳房を再建しても、乳輪乳頭部は欠損する。これに対し、乳頭の形態は皮弁で作製できるが、乳輪乳頭部の色素は刺青によって補うしかないのが現状である。刺青による着色は、非生理的だけでなく、合併症の可能性も否定できない。そこで本研究では、われわれが有する皮膚培養技術を基礎として、生理的な乳輪乳頭の色素を再建する技術を確立することを目的とする。本研究成果は、美白化粧品によって生じた白斑の治療などにも役立てたいと考えた。

3. 研究の方法

本研究は、以下の手順で施行した。

1. 組織採取: 承諾済乳房全摘患者の切除組織から乳輪乳頭及び正常組織を採取する。(1~3年目)
2. 表皮培養: 組織提供患者より得た皮膚から、色素細胞温存表皮を培養する。(1年目)
3. 培養表皮移植: 培養表皮を ICR ノードマウスに移植し、2ヵ月後に組織を採取する。(1~2年目)

4. 組織化学的検討: 採取組織を組織化学的、分子生物学的に解析し、色調、色素細胞分布、メラニン量を解析し画像解析でカラーマッチを検証する。(1年目後半~2年目)

5. 臨床研究: 片側健常乳輪乳頭部より採取した皮膚を培養する。(2年目後半~3年目前半)

6. 培養乳輪移植: 得られた培養乳輪乳頭表皮を、再建後乳房に移植し性状、整容性をフォローする。

(2年目後半~3年目終了迄: 暫定、以後も外来フォロー)

4. 研究成果

平成27年度

本年度乳房全摘患者数例より IC 取得後、術中の余剰皮膚の提供を受けた。得られた皮膚は、大量の脂肪組織が付着していたが、細切を十分に行うことで除菌ならびに酵素消化も可能であった。酵素消化後の皮膚から得られた遊離細胞は、通常の培養表皮移植に用いるための採皮とは異なるため若干収率は低い傾向にあったが、表皮細胞の培養は十分可能であった。培養された表皮細胞には、色素細胞も温存されており、位相差顕微鏡下においてその存在が容易に確認できた。

得られた培養表皮細胞がシート化され、このシート化された培養表皮の剥離が試みられた。乳輪乳頭面積は通常の培養表皮移植に比べると面積的に小さいため、培養表皮細胞をシート状に剥離するためには、特殊なキャリアが必要となる。そこでポリ乳酸不織布に植物由来多糖体ラミネートした全く新たなキャリアの開発を同時に考案した、その結果、この多糖体ラミネート量を変化させることで、シート剥離性とシート移植性のハンドリングを両立するキャリアも完成した。以上の結果から、乳輪乳頭周囲への移植のための培養表皮の作製技術、移植のための新規デバイスの準備ができた。

一方で移植法シュミレーションとして、ヌードマウスを用いて、前臨床研究を行った。麻酔下のヌードマウス背部の消毒後、ローター型グラインダーを用いてアブレーションして薄削した。その後、上記で得られた培養表皮シートを新規キャリアとともに移植し、キャリアの剥離後ワセリンを塗り込んだ非固着性ガーゼで被覆したのち、タイオーバー固定をした。術後1日で薄削した移植部位はすでに表皮が生着しており、正常皮膚部分にまで割り込んで移植をした培養表皮は乾燥壊死して脱落し、極めて明瞭に移植の成果が目視出来た。現在も問題なく生存中であり、2ヵ月をめぐり屠殺後組織化学的検討を行う予定である。

平成 28 年度

昨年度確立した色素細胞含有表皮細胞の培養技術を用い本年度、実際に乳輪乳頭周囲の皮膚より、色素含有培養表皮細胞を作成した。健側側の乳輪乳頭より採取できる組織はその特徴から極めてわずかな組織しか採取できない。また、採取後の乳輪乳頭は形態を損なわないこと、醜形を伴わないことが重要であり、その結果採取できる培養用皮膚組織は1x5mmの組織程度に過ぎない。この組織から得られる総細胞数は最大でも1x10⁵細胞程度であるため、これまでの常法的培養技術では培養できないが、我々は独自の培養技術で1x10²細胞からの表皮細胞培養を可能としており、色素細胞を含有している培養表皮シートの作成が可能であった。

得られた培養表皮シートは、昨年度開発した多糖体ラミネートポリ乳酸不織布によって剥離が可能であった。しかしながら、この不織布の柔軟性の問題から乳頭ならびに円錐型立体構造表面への創部追従性が不十分であり、乳頭部のキャリアシートくりぬきなど、今後新たな技術開発が求められた。

このような問題があったが、実際の臨床において移植後の培養表皮の経過も良好であった。成熟色素形成には一定期間の時間を必要とするため、経過観察中である。

平成 29 年度

すでに確立した色素細胞含有表皮細胞の培養技術を用い本年度、実際に乳輪乳頭周囲の皮膚より、色素含有培養表皮細胞を作成し、2例の患者へ移植が実施された。移植当初はカラーマッチが不十分であったが、その後の経過観察と色素脱失患者への治療に用いられる puva、レーザーによって患者が満足する乳輪乳頭の再生が可能となった。ここでしかし大きな問題があった。当該治療は現状健側側の乳輪乳頭から、一部皮膚の採取が必要となる。これは患者にとって大きな苦痛となり、形態を温存するためには採取できる組織は、限定され極めてわずかな組織しか採取できない。こういった制約下で健常側の乳輪乳頭からの採皮は1x5mmの組織程度に過ぎない。この組織から得られる総細胞数は最大でも1x10⁵細胞程度であるため、これまでの常法的培養技術では培養できないが、我々は独自の培養技術で1x10²細胞からの表皮細胞培養を可能としており、色素細胞を含有している培養表皮シートの作成が可能ではある。しかし、健側に侵襲を加えることは事実である。

そこで本年度は、これまでの実績を踏

まえて希望する患者への乳輪乳頭培養表皮移植は実施したが、乳輪乳頭部位での採皮によらない全く新しい色素細胞培養と表皮細胞培養技術を確立し、この両者を手術前に混合してカラーマッチをより自然にできる色素細胞混合培養技術の確立に成功した。

得られた培養表皮シートは、昨年度開発した多糖体ラミネートポリ乳酸不織布によって剥離が可能であった。得られた色素細胞混合培養表皮細胞シートは、dopa 染色で、明確な着色の違いが確認されるとともに、得られたシートはヌードマウスに移植も可能であった。現在色素細胞の移植部分は、明確に色調の変化が観察され、生着が確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

梶川明義

エキスパンダーと表皮除去皮弁による乳房再建

PEPARS 125 巻 35-44 頁、2017 年(査読あり)

〔学会発表〕(計2件)

井上肇

培養細胞シート状剥離のための操作性の良い新たなキャリアシートの開発

第14回日本再生医療学会総会(2016)

梶川明義

乳房再建における私の工夫 美しい乳房を安全に再建するための私の工夫

第58回日本形成外科学会総会・学術集会(2015)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶川 明義 (KAJIKAWA, Akiyoshi)
聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号：70260495

(2) 研究分担者

井上 肇 (INOUE, Hajime)
聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号：60193603

菅谷 文人 (SUGAYA, Fumito)
聖マリアンナ医科大学・医学部・助教
研究者番号：70569524

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()