

機関番号：3 2 4 0 9

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592105

研究課題名(和文)難治性潰瘍に対する酸素環境設計と新しいバイオマテリアルによる血管新生療法の開発

研究課題名(英文)Therapeutic Angiogenesis with oxygen application new biomaterials for chronic wounds

研究代表者

市岡 滋 (ICHIOKA SHIGERU)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：6 0 3 0 6 2 7 2

研究成果の概要(和文):

創傷治療のポイントはいかに血管新生を促進して修復・再生を誘導するかである。

本研究では最適酸素供給効率に基づく生体内環境設計の下新しいバイオマテリアルによる強力な血管新生療法を開発する。

昨年度までにコラーゲンとポリグリコール酸の共重合によるナノファイバーを試作し、同バイオマテリアルが創傷治癒血管新生に及ぼす影響を微小循環可視化モデルで検証した

本年度までに異なる酸素環境下における創傷治癒を in vivo で検証し局所酸素療法の臨床応用に着手した。

研究成果の概要(英文):

Optimal oxygen environment for wound healing is still unknown.

The study aims to experimentally evaluate the wound healing dynamics under different oxygen environment.

We applied an oxygen non-permeable membrane (Polyvinylidene chloride, oxygen permeability: 40-90ml/m² · 24hr · 1atm) and an oxygen permeable membrane (Polymethylpentene, oxygen permeability: 60000-65000ml/m² · 24hr · 1atm) to excisional skin defects in ddy mice

Our result suggested that sufficient oxygen allowed adequate epithelialization and granulation formation. Enhanced neovascularization in the non-permeable group likely implies compensation of hypoxic condition.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000円	420,000円	1,820,000円
2009年度	1,100,000円	330,000円	1,430,000円
2010年度	700,000円	210,000円	910,000円
年度			
年度			
総計	3,200,000円	960,000円	4,160,000円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：創傷治癒学、再生医学

1. 研究開始当初の背景

高齢化や生活習慣病の蔓延によって褥瘡、糖

尿病、血管病変などに起因する慢性創傷・難治性潰瘍が急増している。とくに足潰瘍難治

化による下肢切断は QOL のみでなく生命予後・医療経済にも重大な影響を及ぼすためこれまでにない強力な創傷治癒促進療法が望まれている。創傷治癒過程では血管新生というプロセスが鍵を握っていることに異論の余地はなく、治療のポイントはいかに血管新生を促進して修復・再生を誘導するかである。創傷治癒血管新生を最も促進する酸素供給効率は今のところ不明である。われわれのグループは微小循環・血管新生可視化モデルを開発し、生体内の組織酸素分圧を数マイクロメートルオーダーの空間分解能で測定できるリン光寿命測定用時間分解型共焦点レーザー生体顕微鏡を実用化している (Shibata M et al: Microvascular and interstitial PO₂ measurements in rat skeletal muscle by phosphorescence quenching. J Appl Physiol 91:321-327, 2001)。本研究ではこれらの技術を利用して生体の血管新生が最大に誘導される酸素環境を検索する。創傷治療において血管新生を誘導する足場 (scaffold) となるバイオマテリアルについては、現在コラーゲンマトリックス (人工真皮) が唯一承認されている。われわれはこれに自己骨髄細胞を組み込んで強力に血管新生を誘導する方法を開発・実施して良好な臨床成績を蓄積しつつある (Ichioka S et al: Bone Marrow-Impregnated Collagen Matrix for Wound Healing: Experimental Evaluation in a Microcirculatory Model of Angiogenesis, and Clinical Experience. Br J Plast Surg 58(8):1124-1130 2005)。しかし近年の材料工学の進歩を鑑みるとより有効な血管新生誘導バイオマテリアルの開発・実用化が望まれる。

2. 研究の目的

難治性潰瘍に対して最適酸素供給効率に基づいた生体内環境設計と新しいバイオマテリアルの開発による強力な血管新生療法を目指す。前述のごとく創傷治癒・血管新生を促進する最大酸素供給効率は不明である。また血管新生を目的とする細胞治療でも移植後の細胞動態や生理活性の強度・維持について未解明な部分が多い。難治性潰瘍は母床の血行が乏しく移植細胞が長期に生存し、活性を維持するために生体側から十分な酸素供給があるとは考えられない。外界からの酸素供給はマトリックスやドレッシング材の酸素透過性や拡散距離、拡散係数、濃度勾配など種々の酸素関連パラメータが関与するがこの点についての研究はほとんどない。生体側の創傷治癒・血管新生を最大限に賦活し、移植細胞の生存・生理活性を可能な限り促進・支持できる至適な酸素供給レベルを検証する。マトリックスやドレッシング材の酸素関連パラ

メータを検証し、外界からの酸素分圧制御法を確立する。

血管が成長・伸延していくときその「土壌」として必須なのが細胞外マトリックスである。血管新生における細胞外マトリックスの役割としては、(i)周囲から血管壁構造を支持する機能、(ii)血管が成長・伸延していくときにそのスペースを提供する機能、(iii)血管新生に必要な血管新生因子を保持し必要に応じて供給する機能がある。いわば、細胞外マトリックスは血管新生の誘導に適した足場といえよう。目指す intelligent scaffold は、これら三つの機能をあわせもつようなものである。すなわち、基本構造は血管壁を支持するようなマトリックス構造で、そのマトリックスの中には多くの細胞接着部位を含み、プロテアーゼによって切断・消化されてリモデリングされることが可能であり、血管新生因子の保持・放出機能を持つマテリアルである。すでに臨床で広く用いられているコラーゲンを基盤としたハイブリッド・マテリアルとする予定である。

最適酸素環境を実現するためには創傷および移植細胞に酸素を供給する必要が生じると考えられる。光触媒 (酸化チタンなど) を利用して材料から酸素を発生して細胞活動・創傷治癒を支持する酸素供給型生体材料の開発を構想している。

3. 研究の方法

創傷治癒・血管新生を促進する最大酸素供給効率は不明である。また血管新生を目的とする細胞治療でも移植後の細胞動態や生理活性の強度・維持について未解明な部分が多い。難治性潰瘍は母床の血行が乏しく移植細胞が長期に生存し、活性を維持するために生体側から十分な酸素供給があるとは考えられない。外界からの酸素供給はマトリックスやドレッシング材の酸素透過性や拡散距離、拡散係数、濃度勾配など種々の酸素関連パラメータが関与するがこの点についての研究はほとんどない。生体側の創傷治癒・血管新生を最大限に賦活し、移植細胞の生存・生理活性を可能な限り促進・支持できる至適な酸素供給レベルを検証する。

ddy マウスを対象として、背部両側に対称的に直径 8mm の全層皮膚欠損創を作成した。作成した創の一方を酸素透過膜 (ポリメチルペンテン、酸素透過度 (60000-65000ml/m²・24hr・1atm)、もう一方を酸素不透過膜 (ポリ塩化ビニリデン、酸素透過度 40-90ml/m²・24hr・1atm) で被覆し、それぞれを透過群、不透過群として比較した。あらかじめ皮膚欠損創を被覆した膜の内側に Pd ポルフィリンセンサーを接着し、Minisensor Oxygen

Meter(Fibox 3, PreSens 社)を用いて、外側から励起光をあて、その反射光を解析することで、被覆下創部外表の酸素環境を経時的に評価した。創縮小率(7日目の創面積/0日目の創面積)、7日目の肉芽の血管密度および厚さを測定した。

7日目の酸素分圧は透過群で100mmHg前後と大気酸素分圧(約150mmHg)に近い値(以下、大気酸素環境)であったのに対し、不透過群では不透過群で10mmHg前後と低酸素環境であった。透過群は不透過群と比較して、有意に創面積が縮小し、厚い肉芽形成をみとめた。血管密度は、不透過群で有意に高かった。

酸素透過膜ポリメチルペンテン、酸素不透過膜ポリ塩化ビニリデンで被覆することで、大気酸素環境、低酸素環境を作成することが可能であった。酸素は代謝・マトリックス形成・感染制御・細胞増殖などに関与し、創傷治癒に必須である(3) - (5)。今回の実験結果より、低酸素環境下では血管の増進が促進され、大気酸素環境下ではより早く創が縮小し、厚い肉芽を形成した。低酸素環境では肉芽形成や上皮化に必要な酸素が不足し、酸素供給を補うために血管新生が促進されると考えられた。

4. 研究成果

酸素分圧変化によって血行動態と血管新生が如何に影響を受けるかを観察・解析した。微小循環環境の酸素分圧を変化させる方策として様々な酸素透過性を有する膜をpreparationした。実験モデルの観察windowを被覆する膜の酸素透過性を変えることで微小環境の酸素分圧を変化させ得る。酸素供給量・酸素分圧と微小循環血行動態・新生による血管構築・組織修復過程との関連を綿密に解析し、酸素分圧と肉芽形成、上皮化率との関係を解明した。

また以下の臨床研究を開始するに至った。

<難治性潰瘍に対する局所酸素療法>

酸素を使った治療として、本邦では、全身への高圧酸素療法が保険適用されている。その有用性に関しては、多くの報告があるが、全身を高気圧酸素に曝露するための大掛かりな装置を必要とし、その施行には日本高気圧環境医学会が認定する管理医の常勤が必須であるなど、施行可能な施設に限られる(20)。また、高濃度の酸素を全身投与するため、肺細胞障害や中枢神経障害などの合併症が問題となる。わが国では、すでに4件の火災事故が発生しているおり、安全性のうえでも不安が残る。

一方、欧米では、創傷への局所酸素療法も行

われている。局所酸素療法は、創部にデバイスを装着し、創傷治癒促進に適した湿度・圧の酸素を充填し、創傷局所からの酸素取り込みを期待する方法である。全身への高圧酸素療法と比較し、装置が簡便であり、全身への副作用も最小限である。酸素が創傷に及ぼす機序が不明であった1969年にFischerがその有用性を報告して以来、創傷治癒過程における酸素の関与やその重要性が解明され、デバイスの開発も相まって、欧米では近年急速に普及しつつある。

局所酸素療法の臨床における有用性は多数報告されている。Blackman Eらは、糖尿病性潰瘍17症例に局所酸素療法を行い、コントロール群として治療に銀含有創傷被覆材を用いた11症例を比較した。局所酸素療法を行った群では、コントロール群と比較し、より重篤な症例が多かったにも関わらず、治癒率(82.4%vs45.5%)が高く、平均治療期間は短かった(56日vs93日)。また、局所酸素療法施行例で再発率が極端に少ないことを報告し、その理由として酸素投与により張力の高いコラーゲンが産生されたためと考察している。Landau Z&Schattner, A1は、100症例の難治性糖尿病性足潰瘍に局所酸素療法と低出力レーザーを組み合わせた治療を行い、81%で治癒したと報告している。Gordilloらは、局所酸素療法により創局所の血管内皮細胞増殖因子の増加がみられたとし、Tawfik&Sultan(18)は、局所酸素療法により50%でMRSAが根絶し、その他の感染源も有意に減少したと報告している。この他にも、静脈性潰瘍や褥瘡に対する、有用性が報告されている。なお、Fischerが報告して以来、1500症例以上に施行されているが、大きな全身合併症の報告はない。

埼玉医科大学では2010年本邦で初めて局所酸素療法の臨床研究を開始した。

われわれが導入したHyper-Box™は、創傷局所に酸素を供給するだけでなく、間欠的陽圧によるマッサージ効果と浮腫軽減効果を有する。また、Bagはdisposableであり二次感染の心配もない。

創部に局所酸素療法デバイスを装着し、創傷治癒を促進するのに適した湿度・圧の酸素を充填し、創傷局所からの酸素取り込みを期待する。本治療は症例の重症度や起因疾患に合わせて、5日/週、1-2回/日、1時間/回の程度の頻度で施行する。本法は簡便な装置で、全身への副作用を最小限として、有効な酸素供給が可能とされている。今回導入するAOTI社の局所酸素療法デバイスは、FDAの認可を受けており、安全性の上でも信頼が高い。

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5件)

Tsuchiya S, Ichioka S, Sekiya N :
Hydroxyurea-induced foot ulcer in a
case of essential thrombocythaemia. J
Wound Care 19(8):361-364, 2010

市岡滋:糖尿病における創傷治療. 糖
尿病合併症 24(2): 198-201,2010

Ichioka S, Yokogawa H, Sekiya N,
Kouraba S, Minamimura A, Ohura N,
Hasegawa H, Nakatsuka T: Determinants
of Wound Healing in Bone Marrow
impregnated Collagen Matrix
Treatment: Impact of Microcirculatory
Response to Surgical Debridement.
Wound Repair Regen 17:492-497, 2009

南村愛, 市岡滋, 佐野仁美, 中塚貴
志 :炭酸泉浴による創傷治癒効果の実
験的検討. 日本形成外科学会誌
29(4):226-229, 2009

佐野仁美, 市岡滋, 南村愛, 池淵研二,
鈴木美穂, 田中竜平: 難治性潰瘍の新
しい治療法【PRP療法の最近の知見. 形
成外科 52: 919-925, 2009

[学会発表](計14件)

市岡滋:創傷治癒に基づいた創閉鎖 第
37回日本股関節学会学術集会 2010/10/2
福岡国際会議場

市岡滋:創傷外科に求められる将来戦略
第 19 回日本形成外科学会基礎学術集
2010/9/16 パシフィコ横浜

市岡滋:次世代への創傷マネージメン
ト 第 12 回日本褥瘡学会学術集会
2010/8/21 千葉幕張メッセ

市岡滋:透析患者の Limb Salvage と創傷
ケア 第 55 回(社)日本透析医学会学術
集会・総会 2010/6/20 神戸

市岡滋:糖尿病性足病変・虚血下肢の創
傷治療 The 27th LIVE in KOKURA
Diabetic Summit I Part 2 糖尿病足病
変を治療する 2010/5/15 小倉

市岡滋 :創傷管理のイノベーション-局

所陰圧閉鎖療法を中心に- 第 19 回日本
創傷・オストミー・失禁管理学会シンポ
ジウム 砂防会館 2010/5/9 千代田区
都市センターホテル・砂防会館

市岡滋 :Timely Intervention of
Debridement Japan Endovascular
Treatment Conference 2010 Hot
debate 2010/4/25 六本木アカデミーヒ
ルズ

市岡滋:皮膚難治性潰瘍をいかに治す
か 第 109 回日本皮膚科学会総会
2010/4/17 大阪国際会議場

市岡滋:これからの創傷治療-局所陰圧
閉鎖療法- 第 109 回日本皮膚科学会総会
2010/4/16 大阪国際会議場

市岡滋 : Wound Management の経済性を
考える 第 53 回日本形成外科学会総
会・学術集会 2010/4/7 石川県金沢市

市岡滋 :下肢難治性潰瘍の診断・治療
ワークショップ 1:Limb Salvage へのア
プローチ 第 8 回日本フットケア学会
2010/2/27 佐賀県

市岡滋 :糖尿病における創傷治療 第
24 回日本糖尿病合併症学会 2009/10/10
岡山コンベンションセンター

市岡滋:創傷における感染の新たな考え
方-Critical colonization って何?-
第 14 回日本老年看護学会 2009/9/27
札幌コンベンションセンター

市岡滋 :本邦における下肢救済の現状
と将来~最先端の治療「形成外科」~
第 1 回日本下肢救済・足病学会
2009/9/26 パシフィコ横浜

[図書](計3件)

市岡滋:下肢潰瘍ケアのコツ:新・心臓
病診療プラクティス 血管疾患を診
る・治す, 小室一成 編, 文光堂,
238-240,2010

市岡滋:Critical colonization と消
毒:WHAT S NEW in 皮膚科学, 宮地良
樹 編, メディカルビュー社,
168-169,2010

市岡滋:創傷治癒の臨床. 金芳堂, 全
126 ページ, 2009

6 . 研究組織

(1)研究代表者

市岡 滋 (ICHIOKA SHIGERU)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：60306272