

令和元年6月25日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11755

研究課題名(和文) 癒痕拘縮抑制効果を示す自己治癒誘導型接着性多孔膜の開発

研究課題名(英文) Development of self-healing-inducing adhesive porous membrane showing the effect of suppressing scar contracture

研究代表者

岐部 俊郎 (KIBE, TOSHIRO)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教

研究者番号：50635480

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)：口唇裂・口蓋裂や口腔がんなどの術後には癒痕収縮や癒痕拘縮のない創部治癒が望まれるが、これを実現する機能をもつ創傷被覆材は未だに開発されていない。そこでNIMSが開発したHxAlGItn)を創傷被覆材として応用し、ラット皮膚における創傷治癒への影響を検証した。

HxAlGItnでは血管新生が促進され、正常組織に近い上皮の厚みやコラーゲンタイプ1の発現が認められた。また、癒痕収縮効果も認められたことから一定の良好な創部治癒を示したといえる。しかし、上皮新生の促進効果はなく、創部の閉鎖は遅延する傾向を認めた。この結果から、上皮細胞へ与える影響について細胞生物学的な解析の必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、我々が解析したHxAlGItnは、癒痕拘縮抑制に関して一定の効果を認めた。

手術術後の癒痕拘縮の抑制が可能になれば、癒痕による術後の口唇の変形の軽減や、上顎骨成長抑制の防止が期待され、歯科矯正や言語治療期間の短縮、二次手術の減少が見込めるため、国の医療費の削減につながり国民全体の利益となると考えられた。その意味で、その一端をにる見地を得られた本研究の意義は大きいと思われる。

研究成果の概要(英文)：It is desirable for wound healing without scar contraction and scar contracture after surgery after oral and maxillofacial regions such as cleft lip and palate and oral cancer. However, a wound dressing having a function to realize this has not been developed yet. Therefore, we applied a hydroadhesive gelatin-derived bioadhesive porous membrane (HxAlGItn) developed by the National Research Organization for Materials and Materials (NIMS) as a wound dressing. We examined the effect on wound healing in rat skin.

We analyzed the effect of HxAlGItn on wound healing using an animal model. In this study, HxAlGItn promoted angiogenesis, and showed epithelial thickness close to normal tissue, expression of collagen type 1, and scar contraction effect. However, there was no promoting effect on epithelialization, and wound closure tended to be delayed. (Kibe et. Al. During submission) This result suggested the need to analyze the influence on epithelial cells in a cell biological way.

研究分野：口腔外科

キーワード：癒痕拘縮 上皮欠損 筋線維芽細胞 創傷被覆材

1. 研究開始当初の背景

口唇口蓋裂は、出生時に口唇や口蓋が裂けた状態で生まれてくる頻度の高い先天異常で、日本人の約 600 人に 1 人の割合で発生する。口唇裂の患児には口唇形成術を、口蓋裂の患児には口蓋形成術をそれぞれ行い形態・機能の回復を行う。

口蓋形成術では、口蓋粘膜を上顎骨口蓋骨から剥離する方法のため、口蓋前方部に粘膜の欠損部が生じてしまう。その欠損組織を創被覆材で覆う必要があるが、同部の治癒転帰は瘢痕組織となり、瘢痕拘縮が生じやすい。口蓋形成術後の創部の瘢痕拘縮によって上顎や口蓋が内方に引かれ、上顎骨の外方への成長抑制の原因となる。これにより、下顎前突や重篤な歯列の不正などの様々な不正咬合が惹起され、患者の咀嚼・発音機能が著しく障害される。これまでに我々 (Nakamura et.al. J Oral Maxillofac. Surg. 2009) や多くの施設で治療法の工夫と評価がなされてきたが、この問題を解決できていない。

口唇口蓋裂の治療は 0 歳から 18 歳までの長期間にわたり、患者の治療経過に応じて複数回の手術が必要になる。そのため、長期的な治療による身体的・精神的な負担は患者本人だけでなく、その家族にとっても大きい。治療にかかる費用は国からの補助があり、口唇口蓋裂児の場合では、患者一人当たりの治療に 1000 万円程度の治療費が補助される。日本では年間 3000 人近くの口唇口蓋裂児が出生しているとされており、国の医療費の負担も少なくない。口唇口蓋裂手術後の瘢痕拘縮の抑制が可能になれば、瘢痕による術後の口唇の変形の軽減や、上顎骨成長抑制の防止が期待され、歯科矯正や言語治療期間の短縮、二次手術の減少が見込めるため、国の医療費の削減につながり国民全体の利益となる。

創の瘢痕拘縮には、上皮細胞と間葉系細胞が関与しており、創傷治癒の初期過程の「増殖期」に線維芽細胞から分化する筋線維芽細胞が産生する多量の弾性線維により生じると言われている。また、創部の上皮細胞の増殖・遊走による創部被覆の遅延も瘢痕拘縮の原因となる。

そこで我々は、創被覆材が創傷治癒の初期過程にどのような影響があるか検討するために、既存の創被覆材を用いて動物実験を行い、免疫組織学的解析を行った。その結果、創被覆材は筋線維芽細胞 (SMA 陽性細胞) の発現を抑制することで創の収縮を防ぐものの、上皮新生を促進させる効果はないために、創治癒の遅延を起こすことを見出し報告した (AAOMS in Honolulu 2014) (Kibe et.al. OOOO. 2017)。

既存の創被覆材では理想的な瘢痕抑制、創治癒を得ることが難しいため、国立研究開発法人物質・材料研究機構 (NIMS) (研究分担者、田口) と研究協力体制を構築し、生体内の成長因子を吸着・徐放することにより自己治癒力を誘導し血管新生を促進する生体接着性多孔膜 (HxAlGItN) を開発した (Taguchi et.al. j.biomaterials. 2015)。HxAlGItN は細胞遊走の足場となる多孔構造と、Hx 基を持つ分子構造により組織へ優れた接着能と生体内様々な成長因子と結合する機能を有する。この接着膜を用いて動物実験では、創部の変形が小さく創部組織での血管新生の促進が認められたが、上皮新生の促進は認めなかった。(図 4、図 5 参照)。

多くのシグナル分子は上皮-間葉相互作用的に関与 (Fuchigami, Kibe et.al. BBRC 2014) しており、瘢痕拘縮においても同様と考えられる。我々は、上皮新生を促進させ、瘢痕拘縮抑制する因子を検索するために、上皮細胞と間葉系細胞の共培養実験が必要であると考えている。瘢痕拘縮における研究ではヒト正常口蓋粘膜上皮細胞株を用いた報告はなく、再現性ある長期研究に適した細胞株はなかった。我々はこの問題を解決するために、ヒト口蓋上皮由来の細胞株を樹立し、ヒト上皮細胞と間葉系細胞の共培養実験系の準備を整えた (Kibe et.al. Oral Sci. Int. 2011)。

以上をまとめると、「様々な成長因子と結合し治癒を誘導できる可能性を持つ接着性多孔膜を瘢痕抑制因子と組み合わせ、術後の瘢痕拘縮を予防することは、「患者の負担を軽減」と「国の医療費の削減」へとつながる。また、瘢痕拘縮の抑制因子を解析するために、我々はヒトの口蓋上皮由来の不活化細胞の樹立を行い、「共培養実験の準備を整えた状態」と考えている。

2. 研究の目的

動物実験にて、新規に開発した多孔膜状疎水化ゼラチン接着膜を創被覆材として応用し、既存の創被覆材と比較解析する。そこで得られた知見に基づいて、ヒト由来口蓋上皮および線維芽細胞株を用いて創の瘢痕拘縮に関わる因子を検索・機能解析し特定する。最終的に、多孔膜状疎水化ゼラチン接着膜に瘢痕抑制因子を組み合わせることで創部拘縮を抑制する創被覆材を開発する。

3. 研究の方法

ラットを用いた動物実験による創被覆材の違いによる瘢痕拘縮関連タンパク発現の比較解析を行った。筋線維芽細胞 (SMA 発現細胞) への分化の違いが生じるため、その後の瘢痕拘縮にも差が生じる可能性があると考えられる。

そこで我々は、これまでの既存の創被覆材に加えて、我々が開発した様々な成長因

子と結合可能な接着性多孔膜 (HxAlGln) を用いてラット背部の創傷治癒過程の解析を行った。創の収縮や閉鎖速度、筋線維芽細胞の発現の差などの治癒過程の違いがどのような因子に起因しているかを調べるために、創部の組織を採取し、瘢痕収縮や創傷治癒に關与するシグナル分子や Ⅰ型コラーゲンをはじめとする間質の蓄積を免疫組織学的、遺伝子学的に評価を行った。

4. 研究成果

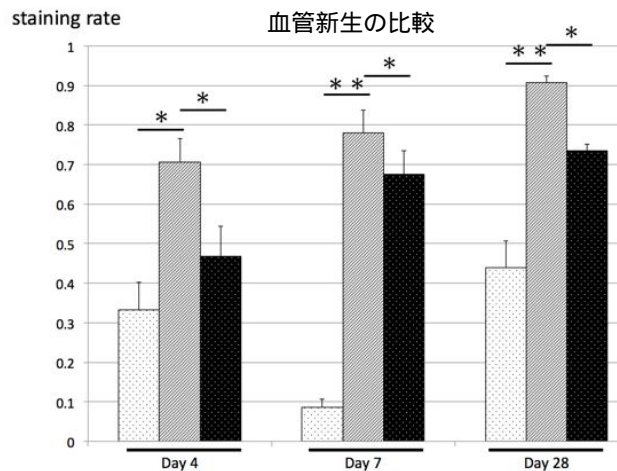
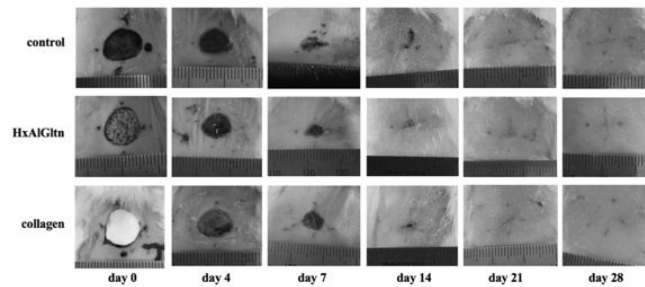
HxAlGln では血管新生が促進され、正常組織に近い上皮の厚みやコラーゲンタイプ 1 の発現が認められた。

また、瘢痕収縮効果も認められたことから一定の良好な創部治癒を示したといえる。

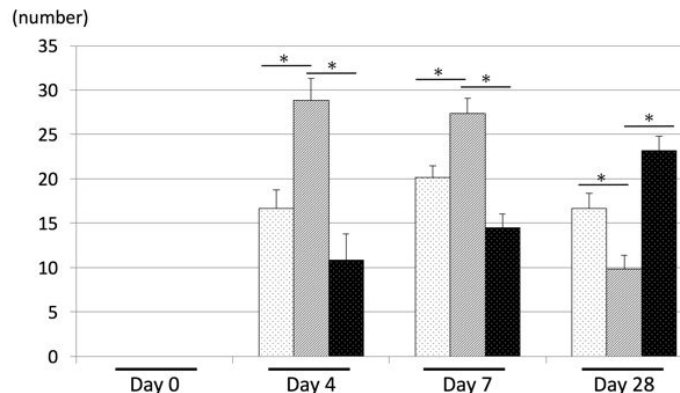
しかし、上皮新生の促進効果はなく、創部初期の収縮を抑制することから、創部の閉鎖は遅延する傾向を認めた。(Kibe et.al. 投稿中)

この結果から、HxAlGln が創部の複雑な形状に隙間なく接着すること、上皮細胞へ与える影響を細胞生物学的に解析することの必要性が示唆された。そのため、今後は細胞生物学的な検討を行い、HxAlGln の改良が必要になると考えられた。

創部経過の比較



コラーゲンの比較



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)

〔関連する雑誌論文〕(計 1 件、投稿中 1 件)

Koga K, Kibe T, Taguchi T, Fuchigami T, Nishihara K, Kiyohide Ishihata, Nakamura N: Evaluation of the wound healing process in mice skin after treatment with hexanoyl group-modified alkaline-treated gelatin porous film (2019 年 投稿中)

Kibe T, Koga K, Fuchigami T, Yoshimura T, Nishihara K, Taguchi T, Nakamura N: Examination of the early wound healing process under different wound dressing conditions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod:123(3):310-319, 2017. 査読あり

〔関連する学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：中村 典史

ローマ字氏名：(NAKAMURA, norifumi)

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域歯学系

職名：教授

研究者番号：60217875

研究分担者氏名：岸田 昭世

ローマ字氏名：(KISHIDA, Shosei)

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域歯学系

職名：教授

研究者番号：50274064

研究分担者氏名：田口 哲志

ローマ字氏名：(TAGUCHI, Tetsushi)

所属研究機関名：国立研究開発法人物質材料研究機構

部局名：バイオ機能分野

職名：MANA 研究者

研究者番号：70354264

研究分担者氏名：淵上 貴央

ローマ字氏名：(FUCHIGAMI, Takao)

所属研究機関名：国立研究開発法人物質材料研究機構：鹿児島大学

部局名：医歯学域歯学系

職名：助教

研究者番号：40772439

(2) 研究協力者

研究協力者なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。