

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：82643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10021

研究課題名(和文) 癬痕拘縮を予防し優れた創傷治癒を誘導する力学的支持性を有した人工真皮の開発

研究課題名(英文) Development of new artificial dermis with dynamic support structure for preventing a scar contracture and inducing excellent wound healing

研究代表者

落合 博子(Ochiai, Hiroko)

独立行政法人国立病院機構(東京医療センター臨床研究センター)・その他部局等・室長

研究者番号：60374162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：疎なコラーゲンマトリクス部に緻密なフレーム構造体を複合化したコラーゲンマトリクス(FCM)を3種類作製し、実際に力学的に耐荷重性が高まっていることを確認した。移植実験では、3%と20%以上のコラーゲン密度を有する構造体を作成し、コラーゲン密度が3%で化学架橋が施されていないテルダーミスをコントロールとした。マウス耳介植皮実験から、ハニカム構造のCFを組み込んだ人工真皮において、疎なコラーゲンマトリクスの部分に優先的に肉芽形成と血管侵入を認め、即時植皮で全生着を得た。また、2週間後ににおいてテルダーミスよりも創収縮が抑制されている結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メカノバイオロジーの観点から、組織が進展・収縮などの変形を繰り返すと癬痕化が促進されることが知られている。実際に形成外科分野では、創部をギプスやテーピングなどで外固定することで癬痕拘縮を予防し、癬痕を目立たなく治す治療が臨床的に行われている。しかし、植皮を行なった広範囲の創や関節、小児の創部などの外固定は困難で患者に苦痛を強いることが多い。そこで、創部を内側から固定することで癬痕を目立たなく治す試みに応用したい。また、本人工真皮は、癬痕拘縮を予防するのみならず、力学的支持機能が手術中の操作性向上に寄与することで手術時間の短縮や成績向上に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Three types of collagen matrix (FCM) with a dense frame structure complexed with a sparse collagen matrix section were created and confirmed to actually have increased mechanical load-bearing capacity. In the implantation experiments, structures with collagen densities of 3% and more than 20% were created, and Teldermis with a collagen density of 3% and no chemical cross-linking was used as a control. From the mouse auricular implantation experiments, granulation and vascular invasion were preferentially observed in the sparse collagen matrix in the artificial dermis incorporating the honeycomb structure of CF, and total engraftment was obtained in the immediate implantation. In addition, wound contraction was more suppressed than that of Teldermis after 2 weeks.

研究分野：形成外科

キーワード：癬痕拘縮 コラーゲン 人工真皮 皮膚再生 マウス 肉芽形成 食費

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

形成外科領域では、外傷、熱傷あるいは腫瘍切除など様々な状況下で、全身あらゆる部位の広範な皮膚欠損に直面する。皮膚欠損の再建には植皮術が頻用されるが、植皮の生着には良好な母床の形成と術後の安静が必要であり、条件が悪ければ植皮が脱落したり拘縮したりするリスクが常につきまとう。母床に支持性が組み込まれれば、外的刺激の低減により植皮の安静が保ちやすくなることで生着率が向上し、長期的に瘢痕拘縮の予防効果が期待できる。また、メカノバイオロジーの観点から、骨格を組み込んだ人工真皮によって植皮の母床が1～2ヶ月間内固定されることで、植皮の質が向上すると期待される。その結果、少量の皮膚移植でも拘縮を生じにくく、皮弁移植に匹敵する再建術が創出されることを着想した。

研究代表者の落合は、これまでに骨髄由来間葉系幹細胞 (BMSC: Bone marrow derived Mesenchymal Stem Cell) による皮膚創傷治癒を研究し、BMSCを皮膚の創に移植すると瘢痕形成が抑制され、正常に近い皮膚構造が再生されることを証明した (Sato(旧姓) et al. Cell Transplant, 2004, 13(4): 405-412.) (Ochiai et al. Regenerative Therapy. 2017 July;7:8-16)。皮膚瘢痕形成の機序として、創部への筋線維芽細胞の凝集、TGF 濃度の上昇、炎症細胞浸潤などが影響している結果を得ており、瘢痕の質の評価の手法も応用化が可能である。(Ochiai et al. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2017 July)

2. 研究の目的

工学研究者と連携し、人工真皮 (CM) への強化コラーゲンフレーム (CF) 構造の組み込みにより生体吸収性のコラーゲンのみで組織置換性と力学的支持性を両立したCF強化人工真皮 (FCM) を開発すること。創部を力学的に強化されたコラーゲンを利用して内固定することで、創傷治癒過程の様々な臨床的問題点の改善を図ることを目指して、その瘢痕形成及び瘢痕拘縮の抑制効果を小動物を用いた in vivo 実験により検証すること。

3. 研究の方法

FCMの開発

研究分担者が所有するコラーゲン配向化技術 (Yunoki et al. JBMR-B 2018) により作製した強化CFを骨格構造体として用い、力学的に支持したFCMを開発する。CM密度 (120 mg/cm³) を固定し、CMの優れた細胞浸潤性・生体吸収性を維持しながらCF密度 (CM/CF = 9.5/0.5 ~ 6/4 [v/v]) を変えて支持性を調節したFCMを作製する。力学的に耐荷重性を確認する。密なコラーゲン支持体がその形態を長期間保持することで、予定した大きさの肉芽形成を可能とすることを目標とする

FCM 4点のマウス背部への移植実験

ICRマウス背部皮下にFCMを移植し、形成される肉芽の大きさと組織学的変化を検討する。既存のコラーゲン人工真皮およびCMを対照群とする。移植後3, 7, 14, 28日目に移植した人工真皮を周囲の組織とともに採取し、マトリクス/ファブリックの残存の程度と肉芽形成の程度を比較、創部へ集積する炎症細胞の種類と数、新生血管、筋線維芽細胞の集積の程度などを組織学的に解析するとともに、安全性を確認する。

人工真皮と皮膚の同時移植実験

C57BL/6Jcl マウス背部に11mmの皮膚欠損創を作成、FCMを移植した上に耳介内側の皮膚を移植する (Lordon ER et al, Biomaterials 43(2015)61-71)。植皮の生着と大きさ、その下床の肉芽の大きさと組織学的変化を検討する。既存のコラーゲン人工真皮およびCMを対照群とする。移植後7, 14, 28日目に移植した人工真皮と植皮を周囲の組織とともに採取し、マトリクス/ファブリックの残存の程度と肉芽形成の程度を比較、創部へ集積する炎症細胞の種類と数、新生血管、筋線維芽細胞の集積の程度、膠原線維の形態などを組織学的に解析する。

4. 研究成果

力学試験により、疎なコラーゲンマトリクス部を有するFCMの耐荷重性がフレーム構造体により向上することが明らかになった。コラーゲンスポンジの緻密化が耐収縮性と組織置換の遅延を生じる可能性が示され、疎なコラーゲンマトリクスに緻密なフレーム構造体を複合化したFCMにより、優れた肉芽形成能と耐荷重性を併せ持つコラーゲン人工真皮が設計可能であることが示された。

次に、臨床を想定した in vivo 実験に設計したFCMを用い、CM吸収および創治癒過程を検証した。マウス背部の皮下にFCMを埋植した部位の組織観察像によると、最も密度の低い3Aでは、埋植後わずか1週で分解および細胞・組織の浸潤を認めた。細胞・組織の浸潤性は中密度の3B

でわずかとなり、最も高密度の 3C では全く観察されなかった。3C では埋植物の形状（断面が矩形型）もほぼ完全に保たれていた。以上の結果は、FCM の骨格構造が創部において耐収縮力を示すことを示唆している。特に安全性に問題となる所見を認めなかった。

FCM と耳介皮膚の移植実験では、3%と 20%以上のコラーゲン密度を有する構造体を作成し、コラーゲン密度が 3%で化学架橋が施されていないテルダーミスをコントロールとした。マウス耳介植皮実験から、ハニカム構造の CF を組み込んだ人工真皮において、疎なコラーゲンマトリクスの部分に優先的に肉芽形成と血管侵入を認め、即時植皮で全生着を得た。また、2 週間後においてテルダーミスよりも創収縮が抑制されている結果を得た。今後は高密度のコラーゲン構造が長期的に全吸収されるまでの期間をコントロールできることを目標とし、強化コラーゲンフレームの最適占有体積を模索し、長期経過の比較検討を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ochiai Hiroko, Song Chorong, Jo Hyunju, Oishi Masayuki, Imai Michiko, Miyazaki Yoshifumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Relaxing Effect Induced by Forest Sound in Patients with Gambling Disorder	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sustainability	6. 最初と最後の頁 5969 ~ 5969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/su12155969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishimon Mari, Ochiai Hiroko, Watanabe Shiho, Hirata Eri, Oka Aiko, Yazawa Masaki, Kishi Kazuo	4. 巻 Publish Ahead of Print
2. 論文標題 Chemotherapy-induced Nasopharyngeal Stenosis Treated with Bilateral Facial Artery Musculomucosal Flaps	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open	6. 最初と最後の頁 e3041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/GOX.0000000000003041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 落合博子、貴志和生、梅澤明宏	4. 巻 13
2. 論文標題 間葉系幹細胞移植による皮膚創傷の癒痕化抑制 - 倫理委員会承認による臨床応用の結果と問題点 -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 癒痕・ケロイド治療ジャーナル	6. 最初と最後の頁 7-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Eri Hirata, Aiko Oka, Agata Tsujisaka, Marika Otaki, Hiroko Ochiai.	4. 巻 3
2. 論文標題 A review and case studies of seven female cases of sacral pilonidal sinus required surgery.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Wound Care	6. 最初と最後の頁 28-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Hiroko Ochiai, Aiko Oka, Eri Hirata, Naoko Yagi, Yuuichirou Uoya, Chihiro Nakayama.
2. 発表標題 Factors related to eyebrows position in patients with aponeurotic ptosis.
3. 学会等名 The 63rd Annual Meeting of Japan Society of Plastic and Reconstructive Surgery (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroko Ochiai, Aiko Oka, Eri Matoba, Eri Hirata, Shiho Watanabe, Risa Sano.
2. 発表標題 Study of patients with congenital bilateral ptosis who underwent initial surgery after childhood.
3. 学会等名 The 64rd Annual Meeting of Japan Society of Plastic and Reconstructive Surgery (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shiho Watanabe, Hisashi Sakuma, Taisuke Mori, Masaki Yazawa, Hiroko Ochiai
2. 発表標題 Changes of muscle fiber composition after selective nerve innervation.
3. 学会等名 The 31st EURAPS Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroko Ochiai, Eri Matoba, Aiko Oka, Risa Sano.
2. 発表標題 Investigation of umbilical complications after gynecological laparoscopic surgery.
3. 学会等名 The 65th Annual Meeting of Japan Society of Plastic and Reconstructive Surgery (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 落合博子
2. 発表標題 腹腔鏡手術後の膈トラブルの現状と対策.
3. 学会等名 第61回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>感覚器センター 再生医療研究室 https://tokyo-mc.hosp.go.jp/section/k-lab_c-3.html</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	<p>柚木 俊二 (Yunoki Shunji) (20399398)</p>	<p>地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部 開発第二部バイオ応用技術グループ・上席研究員 (82670)</p>	
研究分担者	<p>成田 武文 (Narita Takefumi) (20640056)</p>	<p>地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部 開発第二部バイオ応用技術グループ・研究員 (82670)</p>	
研究分担者	<p>岡 愛子 (Oka Aiko) (50795721)</p>	<p>独立行政法人国立病院機構（東京医療センター臨床研究センター）・聴覚・平衡覚研究部・研究員 (82643)</p>	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	平田 恵理 (Hirata Eri) (70795731)	独立行政法人国立病院機構（東京医療センター臨床研究センター）・聴覚・平衡覚研究部・研究員 (82643)	
研究分担者	大藪 淑美 (Ohyabu Yoshimi) (80587410)	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部 開発第二部バイオ応用技術グループ・主任研究員 (82670)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関