

## 報告書

## 平成16年度 丸木記念特別奨学研究費A 研究実績報告書

骨髄細胞移植による難治性創傷に対する血管新生療法の開発：  
生体制御システムにおける環境設計に基づいた臨床応用へのアプローチ

受賞者 市岡 滋 (埼玉医科大学 形成外科)

高齢化や生活習慣病の蔓延によって糖尿病、血行障害、寝たきりなどに起因する慢性創傷・難治性潰瘍が急増しており医療界全体のトピックとなっている。このような状況における形成外科の役割は欠損を速やかに再建・閉鎖することである。通常の保存加療では治癒が困難であるうえに創床の状態が悪く植皮による閉鎖に適さないことも多い。形成・再建外科の観点からは動脈皮弁形成、筋皮弁移植、マイクロサージェリーによる遊離複合組織移植などの血行を有した組織移植の適応といえるが、これらは麻酔や外科手技による侵襲が大きく、全身状態やレシピエント血行の悪条件などから施行できないことも少なくない。また皮弁壊死など移植組織にトラブルが生じた場合はドナーの犠牲も相まって手術前よりも劣悪な状況に陥るリスクがある。

創傷の局所治療では治癒を阻害している要因を除去して創床環境を整備する wound bed preparation といわれるマネージメントが基本となる。しかし最近では末梢動脈閉塞性疾患 (peripheral arterial disease; PAD)、慢性静脈不全 (chronic venous insufficiency; CVI)、糖尿病性足病変などそもそも治癒に必要な組織血流が不全なゆえに難治となる創傷が急増している。これらの症例では通常の創傷局所へのマネージメントのみで治癒を得ることは困難である。

動脈性の血行不全においては経皮経管血管形成術 (percutaneous transluminal angioplasty: PTA) やバイパス手術など血行再建術の適応があれば最優先となる。CVI に関しても表在静脈の抜去 (ストリッピング)、不全交通枝の結紮、硬化療法など血管に対する治療が先決である。

しかし特に糖尿病合併の PAD では病変部位が末梢の細い血管であったり、石灰化が高度で血行再建術の適応とならない場合も多い。血行再建術を行っても創傷治癒に十分な血行が得られるとは限らない。また深部静脈血栓による CVI では血管への根治的治療が困難

な例もある。このような状況において創傷治療の領域では低侵襲で創治癒を促進する手段として再生医療の利用が求められている。

再生医療とは生体材料 (バイオマテリアル)・成長因子・細胞などを積極的に利用して、体の損傷した部分 (組織・臓器) を修復・再生する治療である。

生体材料としては新生血管細胞や線維芽細胞が増殖進展する足場 (scaffold) となる素材が望まれる。この目的に適する承認済み材料がコラーゲンマトリックスである。人工真皮という呼称が一般的である。成長因子製剤ではヒト型組換え塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) 製剤が皮膚潰瘍に対して認可を得ている。これらに加え細胞を用いた難治性創傷治療の実用化が本研究の課題である。

治療に用いる細胞として最も注目されているのは骨髄細胞である。骨髄には造血幹細胞をはじめとする血球系細胞のみでなく、間質中には脂肪、骨、軟骨などの中胚葉系組織に分化する間葉系幹細胞やそれらの前駆細胞がある。また1997年 Asahara らは、成人末梢血中の CD34 陽性細胞の分画から内皮へ分化する一群の細胞が得られることを証明し、成人 (成熟動物) における出生後の血管新生においては、既存の内皮細胞のみでなく、流血中の血管内皮前駆細胞の取り込みという血管発生型の血管形成も関与することを示唆した。これら細胞は骨髄に由来し、低酸素などの刺激・需要に応じて末梢血中に動員 (mobilization) され、血管新生部位に取り込まれることが示唆されている。これらの理由で骨髄が再生医療を遂行するための有力な細胞源とされている。

われわれは自己細胞と scaffold を組み合わせた新鮮非分離自家骨髄浸透コラーゲンマトリックスによる創床再生療法を開発・実用化した。

方法は患者の腸骨から骨髄液を 10-30 ml 穿刺吸引し、新鮮非分離骨髄をコラーゲンマトリックス (人工真皮) に浸透させる (bone marrow-impregnated

collagen matrix). デブリドマンした創面に骨髄細胞浸透コラーゲンマトリックスを移植する. 血管化組織 (vascularized tissue) 誘導後の創収縮・上皮化または二期の植皮術により創を閉鎖する.

先進医療における認可, 保険収載なども視野に入れ, とくに安全性を考慮して細胞分離や培養を行わない自己骨髄全血と, 承認済みで広く臨床で使われているコラーゲンマトリックス (人工真皮) を用いることとした. 骨髄細胞の成長因子産生能, 分化能などの多能性およびコラーゲンマトリックスの scaffold としての機能が創傷治癒過程の血管新生を強力に促進し, 速やかに血行豊富な肉芽組織を誘導して難治性潰瘍を治癒に導くことが期待される.

骨髄から細胞分離を行わないため, 移植される間葉系幹細胞・血管内皮前駆細胞の数が少なく治療効果が十分に得られないという懸念もあるが, 非分離骨髄の移植により著明な創傷治癒血管新生の促進効果が認められることは *in vivo* 微小循環の可視化モデルを用いた実験で確認済みである. さらに骨髄細胞は皮膚の創傷治癒における血管新生のみならずマトリックスの形成にも関与することが実験的に示されている.

以下に本研究に関連する実績を記す.

#### <実績リスト>

##### 著書・総説

- Ichioka S. Techniques in visualization and evaluation of the *in vivo* microcirculation. In: Leondes CP, editor. Biomechanical systems technology: Cardiovascular systems (Vol.2), World Scientific Publishing Co Pte Ltd, Singapore, In press.
- 市岡滋. 自家骨髄移植による創傷治療. PEPER (印刷中)
- 市岡滋. 難治性潰瘍の再建・再生治療. 関節外科 2007;26(6):707-8.
- 市岡滋. 形成外科医による下腿潰瘍の治療. 皮膚科の臨床 2007;49(3):269-74.
- 市岡滋. 指尖部損傷に対する各種創傷被覆材による治療. PEPERS 2007;13:27-32.
- 市岡滋. 顔面・四肢外傷治療のABC 顔面外傷 創傷形態からみた処置法 擦過傷 (創), 挫傷 形成外科 2007;491:S47-S53.
- 市岡滋. 創傷治療における再生医療. Expert Nurse 2007;23(2):19-21.
- 市岡滋. 形成外科の立場から: 再建外科と再生医療 医工学治療 (NPO 日本医工学治療学会機関誌) 2006;18(3):152-6.
- 市岡滋. 再生医療と創傷ケア. 臨床看護 2006;32(11):1563-6.
- 市岡滋, 横川秀樹. 褥瘡の薬物療法. 薬事新報 2006;2436:9(899)-15(905).
- 市岡滋. 特集フットケア 難治性潰瘍の再建療法とは. 肥満と糖尿病 2006;5(4):603-4.
- 市岡滋. 骨髄細胞を用いた難治性潰瘍治療. 医学のあゆみ 2006;217(7):795-6.
- 大浦紀彦, 三井秀也, 市岡滋. 皮膚科医のための臨床トピックス 慢性皮膚潰瘍の maggot 治療 (MDT). 臨床皮膚科 2006;60(5):152-5.
- 市岡滋. 実践創傷治療. 京都:金芳堂;2006.
- 市岡滋. 皮膚科に必要な他科の知識: 形成外科 片山一郎, 土田哲也, 橋本隆, 古江増隆, 渡辺晋一, 編集. 皮膚科学. 東京:文光堂;2006;173-5.
- 市岡滋. 褥瘡外科療法の基礎 (解説) 日本褥瘡学会誌 2006;8(1):28-33.
- 市岡滋. 生体反応からみた褥瘡の発生機序. 宮地良樹, 真田弘美 編集. 新・よくわかって役に立つ褥瘡のすべて. 東京:永井書店;2006;17-21.
- 市岡滋. ラップ療法: 私はこう思う Expert Nurse 2005;21(2):119-21.
- 市岡滋. 褥瘡の外科治療に用いる基本手技. 臨床看護 2005;31(10):1479-83.
- 市岡滋. 創傷治療のこれから. Homecare Medicine 2005;6(7):47-50.
- 市岡滋. 糖尿病性足病変② 糖尿病性足病変の診断・治療. Homecare Medicine 2005;6(6):44-8.
- 市岡滋. 糖尿病性足病変① 糖尿病性足病変の病態. Homecare Medicine 2005;6(5):46-8.
- 市岡滋. Moist wound healing (湿潤環境創傷治療). 塩谷信幸 監修 創傷治療. 東京:ブレーン社;2005;66-75.
- 市岡滋. 創傷被覆材. 波利井清紀, 森口隆彦, 編集. 形成外科 ADVANCE シリーズ 創傷の治療: 最近の進歩. 東京:克誠堂;2005;116-26.
- 市岡滋. 血管病変による難治性潰瘍. Homecare Medicine 2005;6(4):37-41.
- 市岡滋. 褥瘡③ 褥瘡の治療 深い褥瘡・難治化した褥瘡への対応. Homecare Medicine 2005;6(3):33-9.
- 市岡滋. 褥瘡② 褥瘡の治療 予防的ケアと褥瘡治療の概要. Homecare Medicine 2005;6(2):38-41.
- 市岡滋. 真皮欠損グラフト (人工真皮) の新しい展開 細胞 2005;37(5):207-9.
- 浅野隆之, 中川雅裕, 市岡滋, 中塚貴志. リハ医が知っておきたい術式のポイント 形成外科 褥瘡. Journal of Clinical Rehabilitation 2005;14:104-7.
- 浅野隆之, 中川雅裕, 市岡滋, 中塚貴志. リハ医が知っておきたい術式のポイント 形成外科 皮膚移植・皮弁. Journal of Clinical Rehabilitation 2005;14:4-7.
- 市岡滋. 褥瘡① 褥瘡の発生と見方. Homecare Medicine 2005;6(1):39-43.

## 原著論文

- Ichioka S, Ando T, Shibata M, Sekiya N, Nakatsuka T. Oxygen consumption of keloids and hypertrophic scars. *Ann Plast Surg* (in press).
- Ichioka S, Sekiya N, Shibata M, Nakatsuka T. AlphaV beta3 ( $\alpha v \beta 3$ ) integrin inhibition reduces leukocyte-endothelium interaction in a pressure-induced reperfusion model. *Wound Repair Regen* (in press).
- Tanaka R, Ichioka S, Sekiya N, Ohura N, Uchino S, Ojima A, Itoh Y, Ishihara O, Nakatsuka T, Ikebuchi K. Elastic plasma protein film blended with platelet releasate accelerate healing of diabetic mouse skin wounds. *Vox Sang* 2007;93(1):49-56.
- Takeda A, Iseki H, Otani Y, Takeuchi H, Ichioka S, Kawai Y, Shinozuka N and Koyama I (2006). Lymphatic mapping and lymphatic endothelial cell isolation in colorectal cancer patients. *Asian-Pacific J Clini Oncol* (in press).
- Ichioka S, Okabe K, Ohura N, Yokogawa H, Nakajima M, Nakatsuka T. Versatility of the Limberg flap and the V-Y Flap (based on a distal perforator) for covering sacral ulcers. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2007;41:65-9.
- Shibata M, Ohura N, Sekiya N, Ichioka S, Yamakoshi T, Yamakoshi K, Kamiya A. Compact capillaroscopy for human skin using CCD video-probe. *Microvascular Review and Communications*. (in press).
- Shibata M, Ichioka S, Togawa T, and Kamiya A. Arterioles contribution to oxygen supply to skeletal muscles at rest. *Eur J Appl Physiol* 2006;97:327-31.
- Kurita M, Ichioka S, Oshima Y, Harii K. Orthopaedic POSSUM scoring system: An assessment of the risk of debridement in patients with pressure sores. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2006;40(4):214-8.
- Shibata M, Qin K, Ichioka S, Kamiya A. Vascular wall energetics in arterioles during nitric oxide dependent and independent vasodilation. *J Appl Physiol* 2006; 100(6):1793-8.
- Ichioka S, Kouraba S, Sekiya N, Ohura N, and Nakatsuka T. Bone Marrow-Impregnated Collagen Matrix for Wound Healing: Experimental Evaluation in a Microcirculatory Model of Angiogenesis, and Clinical Experience. *Br J Plast Surg* 2005;58(8):1124-30.
- 時岡一幸, 市岡滋, 関谷直美, 工藤聡, 中塚貴志. ヒト塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)およびプロスタグランジンE1(PGE1)の局所持続投与法に関する実験的検討. *日本形成外科学会誌* 2005;25(9):583-9.
- Ohura N, Ichioka S, Sudo T, Nakagawa M, Kumaido K, Nakatsuka T. Dislocation of the bilateral mandibular condyle into the middle cranial fossa: review of the literature and clinical experience. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;64(7):401-4.
- Ohura N, Ichioka S, Nakatsuka T, Shibata M. Evaluating dressing materials for the prevention of shear force in the treatment of pressure ulcers. *Journal of Wound Care* 2005;14(9):401-4.
- 栗田昌和, 大島淑夫, 手島玲子, 白石知大, 市岡滋. 外傷治療における閉鎖吸引療法の有効性. *整形・災害外科* 2005;48(8):967-71.
- 栗田昌和, 大島淑夫, 市岡滋, 大和田愛, 青井則之. 褥瘡患者に対する観血的処置の全身状態に対する影響(POSSUMによる分析). *日本褥瘡学会誌* 2005;7(2):178-83.
- 渡辺裕美, 大浦紀彦, 市岡滋, 中塚貴志. 難治性潰瘍に対する局所陰圧療法の臨床経験. *日本形成外科学会誌* 2005;25(8):509-16.
- Ichioka S, Ohura N, Nakatsuka T. Benefits of surgical reconstruction in pressure ulcers with a nonadvancing edge and scar formation. *Journal of Wound Care* 2005; 14(7):301-5.
- Shibata M, Ichioka S, Ando J, Togawa T, Kamiya A. Non-linear regulation of capillary perfusion in relation to tissue pO<sub>2</sub> changes in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2005;94(3):352-5.
- Tsuji S, Ichioka S, Sekiya N, Nakatsuka T. Analysis of Ischemia-Reperfusion Injury in a Microcirculatory Model of Pressure Ulcers. *Wound Repair Regen* 2005; 13(2):209-15.
- Ichioka S, Ohura N, Nakatsuka T. The positive experience using a growth factor product on deep wounds with bone exposure. *Journal of Wound Care* 2005;14(3):105-9.
- Asano Y, Ichioka S, Shibata M, Ando J, Nakatsuka T. Sprouting from arteriovenous shunt vessels with increased blood flow. *Med Biol Eng Comput* 2005;43:126-30.
- Shibata M, Ichioka S, Kamiya A. Estimating oxygen consumption rates of arteriolar walls under physiological conditions in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289(1):H295-300.