解説

色材, 71 [7], 434-439 (1998)

人工皮膚の研究開発

黒柳能光*

1. 緒言

熱傷や褥瘡(床ずれ)などの治療に使用される人工皮膚について理解を深めるために皮膚の構造と機能について簡単に説明する。皮膚は僅か数 mm の厚さではあるが、生体の中では最大の器官であり、多種多様に分化した細胞が皮膚の複雑な機能を担っている。発汗したり皮膚表面が水滴を弾くことなどから皮膚には付属器官による分泌排泄作用があることが容易に理解できる。また、外界からの物理的な刺激に対する感覚機能は、皮膚のもつ重要な機能である。皮膚は、表皮と真皮、それに付属器官に大別できる(図-1)。真皮層には、コラーゲンと多糖類を主成分とする網目構造のマトリックス内に線維芽細胞が存在し、血管と神経繊維が豊富に分布している。真皮と表皮の境界には、基底膜と呼ばれる特殊なタンパク質の層が存在し、この上で角質化細胞が増殖と分化を繰り返す。分化した細胞は、皮膚上層部へと送り出され、下層部から基底層、有棘層、顆粒層、透明層を形成し皮膚の表面は角質層で覆われる。この角質層は死滅した細胞であり主成分はケラチンである。このような生体を守る皮膚が、何らかの外的な原因で失われたとき、生体は早急に皮膚を再建する能力をもっている。この皮膚再建過程を創傷治癒と呼ぶ。

皮膚欠損創が小範囲で皮膚全層に至らない場合には、自然治癒が期待できる。自然治癒は、二つの機構に分けることができる。その一つは、基底膜が温存されているような極めて浅い傷の自然治癒である。例えば、擦り傷

の場合は、基底膜が温存されているため角質化細胞の増殖と分化により表皮層が再建される。この創傷治癒機構を「再生」(regeneration)と呼び、この場合、傷の跡は残らない。他の一つは、基底膜が破壊され真皮層の一部が損傷を受ける程度の深さの傷の自然治癒である。例えば、外傷性皮膚欠損傷や部分的に壊死組織が確認できる程度の熱傷などの場合は、真皮層の一部が破壊されているので、線維芽細胞によるコラーゲンを主成分とする真皮マトリックスの産生と毛細血管の増生による肉芽組織が形成される。そして、周囲の正常組織から角質化細胞が肉芽組織上を移動して増殖することにより基底膜が再建され、さらに角質化細胞の増殖と分化により表皮が再建される。この創傷治癒機構を「修復」(repair)と呼び、この場合、肉芽組織形成に起因する真皮組織の構造の乱れが残留するため傷の跡が残ってしまう。いずれの創傷治癒機構においても、外部からの細菌の侵入を阻止することが必要不可欠であり、皮膚欠損創を被覆保護することが治療の基本である。

2. 人工皮膚の分類

生体を守る皮膚が失われたとき、いかに危険な状況にさらされるかは容易に理解できる。皮膚の機能は複雑であり人工的に調製できる皮膚代用物は、皮膚のもつ機能

〔氏名〕くろやなぎ よしみつ
〔現職〕北里大学医療衛生学部助教授
〔趣味〕旅行
〔経歴〕東京工業大学大学院博士課程終了。西独フィリップス大学大学院博士課程終了。東京大学生産技術研究所で制癌剤の徐放化の研究。1985年から北里大学医学部で人工皮膚の研究。工博・理博・医博。1991年日本バイオマテリアル学会賞受賞。

平成 9. 8. 18 受理
Research and Development of Artificial Skin
Yoshimitsu KUROYANAGI

* 北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センター
神奈川県相模原市北里 1-15-1 (〒228-0829)

図-1 皮膚の構造と熱傷深度

のほんの一部しか代行できない。しかし、早急に創面を被覆保護して、外界からの細菌の侵入を阻止し、体液の漏出を防止することが重要である。人工臓器の定義すなわち“臓器の機能不全を代行するために人体に適応される人工的な機器”に従えば、皮膚の機能の一部を代行するものを人工皮膚と呼ぶことができる。

人工皮膚は、一時的な創傷面の被覆保護を目的とした創傷被覆材と永久生着を目的とした培養皮膚に分類することができる。現在、合成材料あるいは生体材料から作製された種々の創傷被覆材が市販され、熱傷治療や褥瘡治療に使用されている。また、永久生着を目的とした培養皮膚は、患者自身の皮膚から採取した角質化細胞あるいは線維芽細胞を培養容器内で増殖して皮膚の構造の一部を構築したものであり、これを自家培養皮膚と呼ぶ。一方、他人の皮膚から採取した角質化細胞や線維芽細胞を培養して作製したものを同種培養皮膚と呼ぶ。これは永久生着はしないが細胞増殖を促進する種々の生理活性物質を産生して放出するため優れた生物学的創傷被覆材として注目されている。以上述べたように人工皮膚は、一時的に創傷面を保護する創傷被覆材と永久生着を目的とする自家培養皮膚に分類することができる。そして、同種培養皮膚は、新しい生物学的創傷被覆材として位置付けることができる(表-1)。

3. 創傷被覆材

創傷面の被覆保護として他人の皮膚を使用する場合がある。これを同种植皮と呼ぶ。2週間程度で免疫的拒絶反応を引き起こすため永久生着は望めないが、被覆保護材としては最も優れたものである。米国では、死体から

表-1 人工皮膚の分類

I 永久生着型	a) 患者自身の細胞を利用
	● 自家培養表皮(角質化細胞の利用)
	● 自家培養皮膚(角質化細胞と線維芽細胞の利用)
II 一時的被覆型	b) 合成材料・生体材料の利用
	* 創傷被覆材
	● 抗菌剤非含有創傷被覆材
	● 抗菌剤含有創傷被覆材
	c) 他人の細胞を利用
	* 生物学的創傷被覆材
	● 同種培養表皮(角質化細胞の利用)
	● 同種培養真皮(線維芽細胞の利用)
	● 同種培養皮膚(角質化細胞と線維芽細胞の利用)

採取した皮膚を冷凍保存しておき必要な時にこれを解凍して一時的被覆保護材として使用するシステムが普及している。いわゆる皮膚バンクと呼ばれるものである。しかし、わが国では、死体から皮膚を採取することは一般的ではない。そこで、同種皮膚の入手量に制限があるわが国では、豚の真皮を凍結真空乾燥したものが市販されている^{1, 2)}。これは、ヒトから採取した同种植皮に比べると免疫的拒絶反応が強く現われる。しかし、安定供給が可能ため頻繁に使用されている。これを異种植皮と呼ぶ。米国では、皮膚バンクで一定の保存期間を過ぎてしまったものを原料として、細胞を除去して凍結真空乾燥したものが市販されている。これは、同种植皮に分類される。

表-2 創傷被覆材の種類

1) 抗菌剤非含有創傷被覆材

①同種皮膚	●凍結乾燥ヒト真皮
②異種皮膚	●凍結乾燥ブタ真皮
③生体材料	●コラーゲンのスポンジ
	●キチンの不織布・スポンジ
	●アルギン酸カルシウム塩の不織布・スポンジ
④合成材料	●粘着剤を塗布したポリウレタン(PU)膜
	●PU膜とPUスポンジの2層構造
	●シリコン膜とナイロン網の2層構造
⑤生体合成	●PU膜と親水性粒子含有樹脂の2層構造*
複合材料	●シリコン膜とコラーゲンスポンジの2層構造

2) 抗菌剤含有創傷被覆材

- 抗菌剤含有軟膏塗布ガーゼ
- 抗菌剤含有ポリロイシンスポンジ
- 抗菌剤含有PU膜と生体材料スポンジの2層構造**
- 抗菌剤含有PU膜と不織布の2層構造

*ペクチン・ゼラチン・カルボキシメチルセルロース粒子

**コラーゲンとサクシニル化キトサンの混合体のスポンジ

同种植皮および異种植皮に代わるべき創傷被覆材がこれまでに数多く開発されてきた(表-2)。生体材料を再構成したものとして、コラーゲンをスポンジ状に加工した創傷被覆材がある。これは、牛の皮から採取したコラーゲンを水に溶解して凍結真空乾燥したものである。コラーゲンは、真皮組織を構成する重要な成分であり、新生組織がコラーゲンのスポンジ内に侵入して良好な肉芽組織を形成することが可能となり創傷治癒を促進する。また、蟹の殻から採取したキチンを特殊な組成の水溶液に溶解して、これを凝固液中で湿式紡糸して作製した糸を不織布に加工した創傷被覆材がある^{3, 4)}。この他に、アルギン酸ナトリウム水溶液を塩化カルシウム水溶液中で湿式紡糸して作製したアルギン酸カルシウム塩の糸を綿状に加工した創傷被覆材がある^{5, 6)}。特にアルギン酸カルシウム塩の綿は、吸水性に優れているため創傷面を湿潤環境に保持することが可能となり創傷治癒を促進する。アルギン酸カルシウム塩の糸が創傷面に残留することを避けるためにアルギン酸カルシウム塩のスポンジ状の創傷被覆材も市販されている。

合成高分子材料を使用したものは、1960年代から研究が進められ数多くのものが開発されてきた。現在、臨床使用されているものは、ポリウレタンやシリコンを利用したものが主流である。ポリウレタンの膜に接着剤をコーティングして離型紙を貼付したものが創傷被覆材として市販されている^{7, 8)}。この他に、ポリウレタンのスポンジの片面にポリウレタン膜を貼付し、創面に接する面に多孔性のポリエチレン膜を貼付した創傷被覆材もある。また、シリコン膜の片面にナイロンの網を貼付した創傷被覆材が市販されている⁹⁾。国内で最も大きな市場を獲得しているものは、褥瘡や慢性皮膚潰瘍の治療に有効なハイドロコロイド型創傷被覆材と呼ばれるものである^{10, 11)}。これは、ポリイソブチレン系の高分子材料にゼラチン、ペクチン、カルボキシメチルセルロースなどの微粒子を含有させ厚さ数mmのシートを作製し、この片面にポリウレタン膜を貼付したものである。親水性の微粒子を含有したシートが創傷面に接することにより、滲出液がシート内に吸収され創傷面の湿潤環境が保持される。創傷面を湿潤環境に保持することにより滲出液に含まれる種々の生理活性物質を適度に貯留することが可能となり、創傷治癒を促進することができる。しかし、創傷面に既に細菌が存在する場合は、滲出液の貯留は細菌の増殖を促進する環境を与えることになり、感染を助長する危険性がある。生体材料の特徴と合成高分子材料の特徴を兼ね備えた創傷被覆材も開発されている。コラーゲンを基材としたスポンジの片面にシリコン膜を貼付した創傷被覆材が市販されている¹²⁻¹⁵⁾。スポンジ層はコラーゲン単独のものとコラーゲンに少量のグリコサミノグリカンを混合したものがある。これは、スポンジ層が創面に接して新生組織の侵入を促進することにより真皮類似組織を形成し、一方、シリコン膜が外界からの細菌の侵入を阻止して湿潤環境を保持する役割をもつ。

熱傷治療には、各種の創傷被覆材が使用されている。広範囲重症熱傷による死亡の主な原因は感染による敗血症である。それゆえ、外部からの細菌の侵入を阻止し、かつ創傷面に存在する細菌の増殖を抑制できる創傷被覆材の開発が臨床で強く望まれている。一方、来る高齢化社会における寝たきり老人の数は益々増大し、西暦2000年には約100万人に達すると予想されている。その内、2割〜3割の人々が褥瘡(床ずれ)の治療を必要とするであろう。その他に、糖尿病患者に多くみられる難治性皮膚潰瘍の治療も創傷被覆材が必要となる。これ

図-2 抗菌剤含有創傷被覆材の構造と機能（抗菌剤徐放による感染防止）

らの褥瘡や難治性皮膚潰瘍の治療に必要となる創傷被覆材の量は、熱傷治療における使用量をはるかに上回ると予想されている。褥瘡や難治性皮膚潰瘍は、ほとんどが創傷面に感染を伴っていると考えるべきである。それゆえ、外部からの細菌の侵入を阻止し、体液の漏出を防止するといった物理的な防御壁としての機能に加えて、創傷面での細菌の増殖を抑制できる創傷被覆材が必要となる（図-2）。このような理由から、感染を防止する能力を付与するために、抗菌剤を創傷被覆材に含有させる概念が導入され、種々の抗菌剤含有創傷被覆材が開発されてきた。国内外で最初に市販されたものは、代表的な抗菌剤であるスルファジアジン銀を含有したポリロイシンスポンジから成る創傷被覆材である¹⁶⁻¹⁸⁾。疎水性のスポンジ状マトリックスから抗菌剤を徐々に放出することにより感染を阻止して創傷治癒を促進することが可能である。この他に、コラーゲンとキトサン誘導体（サクシニル化キトサン）の混合スポンジの片面に抗生物質であるゲンタマイシンを含有したポリウレタン膜を貼付した創傷被覆材が市販されている^{19, 20)}。また、スルファジアジン銀含有ポリウレタン膜の片面に吸水性の不織布を貼付し、スリット構造をもたせた創傷被覆材^{21, 22)}やスルファジアジン銀を含有したハイドロコロイド型創傷被覆材も開発されている²³⁾。

4. 生物学的創傷被覆材としての同種培養皮膚

培養皮膚は、ヒトの皮膚から角質化細胞および線維芽細胞を採取し、培養容器内で増殖させて皮膚の構造の一部を構築したものである^{24, 25)}。1979年に米国のGreen博士らにより開発されたものは、表皮から採取した角質化細胞を特殊な培養系で急速に培養させて薄いシート状

に作製したものであり、培養表皮と呼ぶ²⁶⁾。患者自身の皮膚から採取した角質化細胞をフラスコ内で培養して培養表皮を作製し、本人に移植するものを自家培養表皮と呼ぶ。1986年に米国で企業化された米国やヨーロッパの幾つかの医療施設で臨床使用されている。同様な技術で、他人の皮膚から採取した角質化細胞を使用して作製したものは、同種培養表皮と呼ばれる。永久生着はしないが、角質化細胞から放出される種々の生理活性物質により創傷治癒を促進することが可能であり、優れた生物学的創傷被覆材として注目され、多くの医療施設で臨床試験が終了してFDA（米国食品医薬品衛生局）の認可待ちである。国内では、聖マリアンナ医科大学形成外科²⁷⁾、久留米大学形成外科²⁸⁾においてGreen博士の技術を使用した自家培養表皮および同種培養表皮が作製され、熱傷治療や瘢痕（引きつった皮膚）の治療に使用され優れた臨床結果が報告されている。

米国のBell博士らにより開発されたものは、真皮から採取された線維芽細胞をコラーゲンのゲル中で培養し、この上で表皮から採取した角質化細胞を培養するものであり、“skin equivalent”と呼ばれ、いわゆる培養皮膚の一つである²⁹⁾。他人の皮膚から採取した線維芽細胞ならびに角質化細胞を使用して作製した同種培養皮膚は既に米国で企業化されている。わが国では、名古屋大学口腔外科においてBell博士の技術を使用した自家培養粘膜が作製され、口腔粘膜の再建に使用され優れた臨床結果が報告されている³⁰⁾。

Hansbroughらにより開発されたものは、コラーゲンとグリコサミノグリカンの混合スポンジの片面にヒト線維芽細胞を播種し、反対面にヒト角質化細胞を播種して培養した自家培養皮膚である³¹⁾。この他に、生体吸収性の合成高分子から成るメッシュ上でヒト線維芽細胞を培養した同種培養真皮³²⁾や合成高分子から成る創傷被覆材（シリコン膜の片面にナイロン網を貼付）上でヒト線維芽細胞を培養した同種培養真皮³³⁾が開発され、既に米国で企業化されている。これらは、線維芽細胞が産生する細胞外マトリックス成分や生理活性物質が創傷治癒を促進するため優れた生物学的創傷被覆材として期待されている。

北里大学医療衛生学部人工皮膚研究開発センターでは、独自の方法で同種培養真皮を開発した^{34, 35)}。免疫的拒絶反応を軽減させるため牛の皮から採取したコラーゲンを酵素処理して得られるアテロコラーゲンを使用してスポンジ状のシートを作製し、この表面に他人の皮膚

から採取した線維芽細胞を播種して同種培養真皮を作製する。この同種培養真皮を冷凍保存液中で凍結させ -152°C の超低温冷凍庫内で保存し、必要時に解凍して使用する。線維芽細胞から放出される種々の生理活性物質により創傷治癒を促進しようとするものあり、生物学的創傷被覆材として位置付けることができる（写真-

写真-1 同種培養真皮：コラーゲンスポンジにヒト線維芽細胞を播種して培養し、 -152°C で冷凍保存しておき必要時に解凍して使用する。

1, -2)。現在、多くの医療機関に同種培養真皮を供給するシステムを確立している。

5. 創傷被覆材開発の今後の展望

他人の皮膚から採取した角質化細胞あるいは線維芽細胞を大量に培養して作製する同種培養表皮と同種培養真皮の適応は、今後かなり普及すると思われる。同種培養皮膚を冷凍保存しておき必要な時にこれを解凍し創傷面に適用する手法が新しい治療法として期待できる。同種培養皮膚は、永久生着はしないが、そこに組み込まれた細胞から種々の生理活性物質が放出される。これにより、患者自身の細胞増殖が促進され深達性Ⅱ度とⅢ度熱傷の治療ならびに褥瘡や難治性皮膚潰瘍の治療も可能となる（図-3）。細胞が放出する生理活性物質を利用する生物学的創傷被覆材と競合する新規の創傷被覆材として期待されているものは、生体材料から作製した創傷被覆材に生理活性物質を含有したものである。コラーゲン、ゼラチン、アルギン酸、ヒアルロン酸などのスポンジを基材として、これに生理活性物質の水溶液を含浸して創面に適用する。細胞増殖因子やフィブロネクチンなどの

写真-2 同種培養真皮の臨床応用：72歳女性；熱湯でⅢ度熱傷，創面の壊死組織を切除して（a）同種培養真皮を適用（b）。毎週，同種培養真皮を適用して2週後に治癒傾向がみられ（c）5週後に創面積の顕著な縮小（d）。

図-3 同種培養表皮ならびに同種培養真皮の構造と機能(培養細胞から産出される生理活性物質により創傷治癒を促進)

生理活性物質は極めて高価であるが、遺伝子組換技術により、ほぼ同等の効果を有する物質が安価に製造できるようになってきた。一般的に、これらの物質は滅菌操作や乾燥状態での保存に対して不安定であるため、使用直前に、滅菌したスポンジ状基材に生理活性物質の水溶液を含浸させる。スポンジ状基材は生理活性物質を保持するためのマトリックスとして作用し、それ自身も創傷被覆材として機能する。今後、このような発想で、種々の生理活性物質の局所投与による褥瘡や難治性皮膚潰瘍の治療に効果を発揮する新規の生物学的創傷被覆材の開発が展開すると予想される。

文 献

- 1) 皆川英彦, 大浦武彦: 形成外科, **32**: 675-681, 1989.
- 2) 安田幸雄, 塚田貞夫: 形成外科, **32**: 683-691, 1989.
- 3) 大島良夫: 形成外科, **33**: 335-341, 1990.
- 4) 木船絃爾: 化学工業, **10**: 44-48, 1991.
- 5) Gilchrist T., Martin A. M.: *Biomaterials*, **4**: 317-320, 1983.
- 6) Van Straelen P.: *Burns*, **18**: 145-148, 1992.
- 7) 川上重彦, 小屋和子, 石倉直敬ほか: 基礎と臨床, **22**(10): 252-258, 1988
- 8) 川上重彦, 加田顕秀, 藤田知代ほか: 基礎と臨床, **22**(11): 462-468, 1988.
- 9) 梅田 整, 本田耕一, 井川浩晴ほか: 熱傷, **9**: 73-77, 1984.
- 10) 米元康蔵, 近藤滋夫, 浅井俊弥ほか: 臨床医学, **9**: 455-463, 1993.
- 11) 村松正久, 相川直樹, 田熊清継ほか: 外科診療, **35**: 257-264, 1993.
- 12) Yannas I. V., Burke J. F., Gordon P. L., et al.: *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**: 107-131, 1980.
- 13) Burke J. F., Yannas I. V., Quinby W. C., et al.: *Ann. Surg.*, **194**: 413-428, 1981.
- 14) Koide M., Osaki K., Konishi J. et al.: *J. Biomed. Res.*, **27**: 79-87, 1993.
- 15) 鈴木茂彦, 一色信彦, 平良達三ほか: 形成外科, **36**: 479-487, 1993.
- 16) 黒柳能光, 黄金井康巳, 塩谷信幸: 日形会誌, **7**: 526-537, 1987.
- 17) Kuroyanagi Y., Kim E., Kenmochi M., et al.: *J. Applied Biomater.*, **3**: 153-161, 1992.
- 18) 黒柳能光・塩谷信幸・依田隆一郎: 生体材料, **10**: 149-159, 1992.
- 19) 安富義哲・中北信昭・塩谷信幸・黒柳能光: 熱傷, **19**: 102-116, 1993.
- 20) Kuroyanagi Y., Shiraishi A., Shirasaki Y., et al.: *Wound Repair Regeneration*, **2**: 122-129, 1994.
- 21) 黒柳能光・影山広美・塩谷信幸ほか: 薬理と治療, **23**: 2477-2487, 1995.
- 22) 黒柳能光・塩谷信幸・中北信昭ほか: 薬理と治療, **23**: 2835-2860, 1995.
- 23) 黒柳能光・影山広美・内沼栄樹ほか: 第6回日本形成外科学会学術集会抄録集 p 60, 1997.
- 24) 熊谷憲夫: 熱傷, **18**: 59-70, 1992.
- 25) 黒柳能光: 熱傷, **23**: 9-27, 1997.
- 26) Green H., Kehinde O., Thomas J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 5665-5668, 1979.
- 27) 熊谷憲夫・田辺博子: 外科診療, **34**: 333-339, 1992.
- 28) 田辺博子・田井良明・有働幸弘: 形成外科, **38**: 227-235, 1995.
- 29) Bell E., Rosenberg M.: *Transplantation Proceedings*, **22**: 971-974, 1990.
- 30) Ueda M., Ebata K., Kaneda T.: *Ann. Plast. Surg.*, **27**: 540-549, 1991.
- 31) Hansbrough J. F., Boyce S. T., Cooper M. L., Foreman T. J.: *JAMA*, **262**: 2125-2130, 1989.
- 32) Gentzkow G. D., Iwasaki S. D., Hershon K. S., et al.: *Diabetes Care*, **19**: 350-354, 1996.
- 33) Hansbrough J. F., Morgan J., Greenleaf G.: *Surgery*, **115**: 633-644, 1994.
- 34) 山下理絵, 塩谷信幸, 黒柳能光: 日形会誌, **14**: 554-564, 1994.
- 35) 山下理絵, 塩谷信幸, 黒柳能光: 熱傷, **22**: 177-184, 1996.