

培養骨髓細胞含浸人工真皮移植による 創傷治癒促進効果についての検討

奈良県立医科大学救急医学教室

三野浩也, 川西弘一, 稲田有史, 宮本誠司

奈良県立医科大学第1病理学教室

吉川隆章, 市島國雄

WOUND HEALING EFFICACY OF RAT STROMAL CELLS COMBINED WITH SPONGY COLLAGEN MATRIX (PELNAC®)

HIROYA MITSUNO, KOICHI KAWANISHI, YUJI INADA and SEIJI MIYAMOTO

Department of Emergency and Critical Care Medicine, Nara Medical University

TAKAFUMI YOSHIKAWA and KUNIO ICHIJIMA

First Department of Pathology, Nara Medical University

Received October 15, 1999

Abstract: [Purpose] Recently, reconstruction of skin defects using artificial dermis composed of an outer layer of silicone and an inner sponge layer of collagen has been developed and is performed clinically. When the artificial dermis is grafted onto a total skin defect, the inner sponge layer spontaneously converts into dermis-like connective tissue. However, 2 or 3 weeks after the application of the artificial dermis, a secondary split-thickness skin graft on the dermis-like tissue is required for skin resurfacing. Until the secondary skin graft, problems of wound infection or tissue fluid leakage persist.

In this study, the authors investigated the effect of cultured bone marrow cells on the synthesis of dermis-like tissue using artificial dermis in rats.

[Methods] Two rats were sacrificed to harvest bone marrow cells from the femurs, and the cells were cultured for 10 days. Full thickness skin defects (3 cm×4 cm) were made on the backs of 20 male Fisher rats, then the rats were divided into 5 groups. The artificial dermis containing 10^4 (10^5 , 5×10^5 , 10^6)/ml bone marrow cells were grafted on the skin defects of rats in Group 1(2, 3, 4). In Group 5, artificial dermis only was grafted. After 10 days, the grafted artificial dermis was harvested, and histological examination was performed. In each group, mean thickness of dermis-like tissue, which was infiltrated by fibroblasts and capillaries, was measured.

[Result] The dermis-like tissue was significantly thicker in Groups 1~4 than in Group 5, and was significantly thickest in Group 2.

[Conclusion] Histologically, topical application of bone marrow cells accelerates proliferation of fibroblasts and capillaries in artificial dermis. Therefore, this study suggests the usefulness of bone marrow cells combined with artificial dermis for wound healing.

(奈医誌. J. Nara Med. Ass. 50, 543~550, 1999)

Key words : artificial dermis, bone marrow cell, skin defect, collagen sponge, wound healing

結 言

広範な重度の熱傷患者の場合、敗血症で死亡することが多く、現在の医療技術では、有効な治療がないのが現状である。重症熱傷患者の救命には、より早期の皮膚組織の再建が必要であり、深部に達する熱傷では、真皮組織の再建が必要である。近年、生体材料の進歩にともない、これまでに数多くの創傷被覆材(広義の人工皮膚)が開発されている¹⁾。しかし、そのほとんどが、たんなる一時的緊急創被覆材にすぎず、創傷治癒に積極的に働くという意味での有効な材料は見当たらない。

これに対して1980年にYannas, Burkeらによって、貼付後そのまま生体に残存し真皮様組織構造となることを目的とした人工材料が開発され²⁻⁵⁾、その後改良を加えられたものが本邦では人工真皮として臨床応用されている^{1,6-14)}。

人工真皮は内層のコラーゲンスポンジと外層のシリコーン膜の2層構造を成している。これを分層植皮が直接生着しないような深い皮膚軟部組織欠損創に貼付するとスポンジ構造の空隙内に母床から線維芽細胞や毛細血管が侵入増殖し、新たにコラーゲンが産生されるにつれて、もとのスポンジ構造は分解吸収され、次第に真皮様組織に置き換わっていく。その後シリコーン膜を除去し二次的に薄い分層植皮をおこなえば、すでに真皮様組織が再生しているので二次的植皮は生着性に優れるだけでなく、きわめて薄い分層植皮を用いても厚い植皮と同様の効果をもち、植皮術後の拘縮や色素沈着が少なく整容的にも優れている^{6,7,12)}。

また人工真皮移植は、これまで深達性の皮膚軟部組織欠損に対して用いられてきた皮弁、筋皮弁、free flapと異なり、donor siteの犠牲が少なく、手術の侵襲も小さい。

これら多くの利点を有する人工真皮であるが、一方では感染に弱い、二期的に手術を行うため治療期間が長くなる、といった問題点もある。これには、人工真皮内に母床から線維芽細胞や毛細血管が侵入し、真皮様組織が構築され、二次的分層植皮が可能となるまでに、通常、貼付後2~3週間を要する^{6,15)}ことが大きく影響していると考えられる。したがって、上記の問題点を改善するために、何らかの手段をもって真皮様組織の構築を促進

し、二次的植皮までに要する期間を短縮することが望ましい。しかしながら、生体材料だけでは、組織の修復能力に限界があり、近年では、組織修復因子や、自家もしくは同種の線維芽細胞を併用した方法が検討されている。

骨髄細胞は様々に分化しうる幹細胞や線維芽細胞、脂肪細胞を多数含んでおり、高濃度の骨髄細胞浮遊液と多孔質の人工骨(ハイドロキシアパタイト)を混和し移植すると骨形成がみられる¹⁶⁻²⁰⁾が、低濃度では骨形成はみられず、線維組織や脂肪組織が形成されることが知られている²¹⁾。骨髄細胞は、腸骨穿針で得られ、皮膚組織からの細胞採取に比べると、採取後の縫合処置など必要とせず、細胞浮遊液の状態で得られるため、コラーゲン処理の必要もない。また健全な皮膚組織を傷つけることもない。これらの利点をいかし、人工真皮(ペルナック[®])に骨髄細胞を添加し、その真皮様組織修復の促進効果を検討した。

材 料

今回、我々が実験に用いた人工真皮(ペルナック[®], グンゼ社製)は内層のコラーゲンスポンジと外層のシリコーン膜の2層構造を成している。コラーゲンスポンジは0.3%のアテロ化した豚腱由来のI型コラーゲンに熱架橋と化学架橋を加えてスポンジ構造を作り再凍結乾燥処理を施しており^{9,22)}、真皮組織の再生を目的としている。シリコーン膜は厚さが150 μ mで、水蒸気透過性が正常皮膚のそれとほぼ等しくなっており^{1,6,7)}、外面からの感染防止、不感蒸泄のコントロールを目的としている。

方 法

7週齢雄Fisherラット2匹をエーテルを用いて安楽死させた後、両側の大腿骨幹部より骨髄細胞を採取した。これを15%牛胎児血清、抗生剤を含むminimal essential medium(MEM)培地を用い、T75フラスコにて、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂のインキュベータ内で培養した。赤血球など浮遊細胞は、培地交換時に除去され付着細胞(marrow stromal cell)を培養増殖した。10日後トリプシン処理により細胞浮遊液を作製し、希釈または遠心分離(900 rpm, 5分)による濃縮をおこない細胞濃度10⁴、10⁵、5 \times 10⁵、10⁶、0(コントロール) cells/mlの浮遊液を調整した。各細胞浮遊液を3cm \times 4cmの大きさの人工真皮(ペルナック[®])に2mlずつ滴下し含浸させた(各

濃度 4 枚ずつ). 7 週齢雄 Fisher ラット 20 匹をエーテルで基礎麻酔の後ペントバルビタールを体重 100 g あたり 3 mg 腹腔内投与して麻酔した. 背部の毛をバリカンで刈り, ポビドンヨード(イソジン液[®])で皮膚消毒し, 両耳介後縁より 3 cm 尾側背部中央に 3 cm×4 cm の大きさの皮膚全層欠損創を作製した. ラットを 5 群(Group 1~5)に分け, Group 1 (2, 3, 4, 5)のラットの皮膚欠損創に, それぞれ前述の 10^4 (10^5 , 5×10^5 , 10^6 , 0) cells/ml の培養骨髓細胞含浸ベルナック[®]を貼付し, ほぼ 1 cm 間隔でスキン・ステープラーにて固定した. 抗生物質含有軟膏(ゲンタシン軟膏[®])を塗布し, 生理食塩水に浸したガーゼにて wet dressing をおこない, 以後 2 日に 1 度の割合で創部の消毒と dressing change をおこなった.

移植より 10 日後に真皮様組織に変化しつつある人工真皮を周囲組織を含め一塊として採取した. 10%ホルマリンで固定後, HE 染色にて組織標本を作製し, 組織学的に各群の組織修復の比較評価をおこなった.

結 果

【肉眼的所見】

いずれの群でも, 摘出時, シリコン膜をとおして良好な血色をしめず線維組織の形成と思われる所見がみられた. 移植深部の筋膜との癒着も良好であった. 10^4 , 5×10^5 , 10^6 , 0 (コントロール) cells/ml 添加群(Group 1, 3, 4, 5)では, 周囲の健常皮膚組織より移植部位では陥凹がみられたが, 10^5 cells/ml 添加群(Group 2)では, 陥凹はみられず周囲の皮膚組織と同じレベルまで線維組織が形成されるのが確認された. 細胞添加群では,

ガーゼ汚染はなくあきらかな感染の所見はみられなかった. また, コントロール群および細胞添加群の間で, 移植部以外の肉眼的な異常は認められなかった.

【組織学的所見】

細胞濃度 10^4 cells/ml 添加群(Group 1)では, 人工真皮の最表層において, 空虚なコラーゲンスポンジがみられ, 小円形の炎症細胞の浸潤がみられた. また人工真皮の下層約 4 分の 3 まで線維組織, 血管の形成がみられた (Fig. 1).

10^5 cells/ml 添加群(Group 2)では, 深部からシリコン膜まで, ほぼ全層にわたり線維組織が形成され, 毛細血管の侵入がみられた. 人工真皮表層では, 健常表皮組織と連続して線維組織の形成がみられた. コラーゲンスポンジ内には, 線維組織や脂肪組織の形成がみられ, あらたなコラーゲン線維の形成もみられた. 人工真皮内の細胞密度は, ほぼ正常真皮組織と同じで, 良好な真皮組織の形成がみられた. 人工真皮と正常真皮組織の連続性は良好で, その移行部では, 炎症細胞の浸潤や異物反応は確認されなかった. また, 腫瘍を思わせる異型を有する細胞や腫瘍性の増殖を思わせる所見は, みられなかった. 骨組織など線維脂肪組織以外の組織はみられなかった (Fig. 2a, b, c).

5×10^5 , 10^6 cells/ml 添加群(Group 3, 4)では, 約 3 分の 2 まで真皮様組織の形成がみられた. 人工真皮の最表層では, 小円形の炎症細胞の浸潤がみられ, 空虚なコラーゲンスポンジがみられた. いずれの群でも, コラーゲンスポンジ内に線維芽細胞の増生やあらたなコラーゲン線維の形成がみられた. 成熟した脂肪細胞や脂肪組織

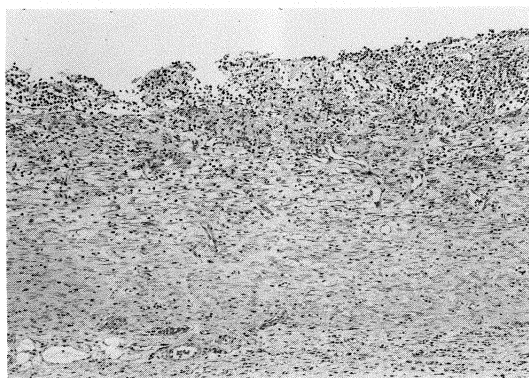


Fig. 1. Histological appearance 10 days postoperatively in Group 1 (hematoxylin and eosin stain, $\times 100$). Infiltration of fibroblasts and capillaries into the collagen sponges was observed only in the lower three-fourths of the artificial dermis.

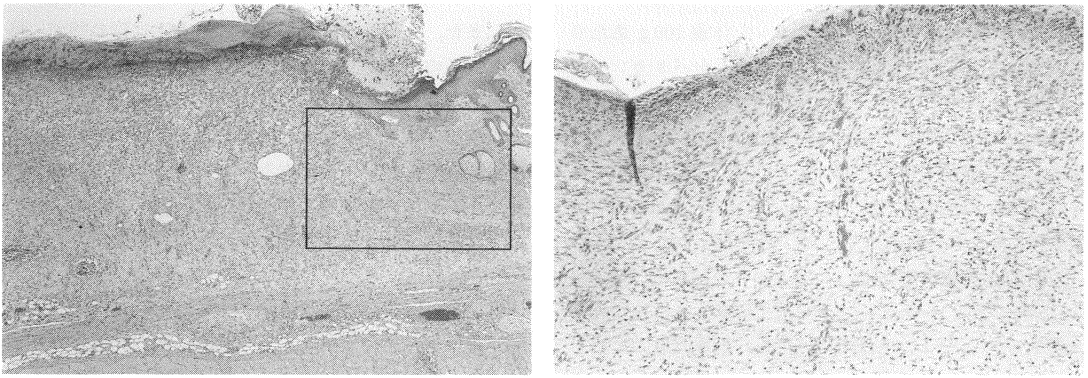


Fig. 2a, b. The histological appearance 10 days postoperatively in Group 2 (hematoxylin and eosin stain, $\times 40$, $\times 100$). Extensive infiltration of fibroblasts and invasion of capillaries were observed in almost the whole layer of the artificial dermis.

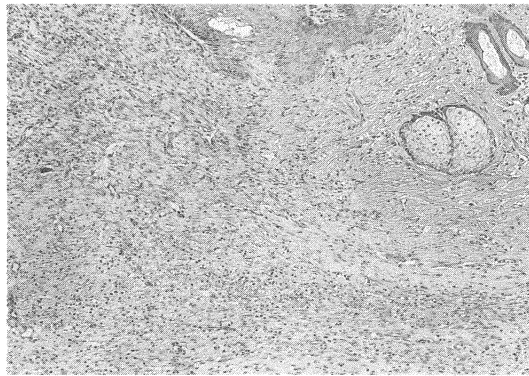


Fig. 2c. Higher magnification of Fig. 2a. ($\times 100$)

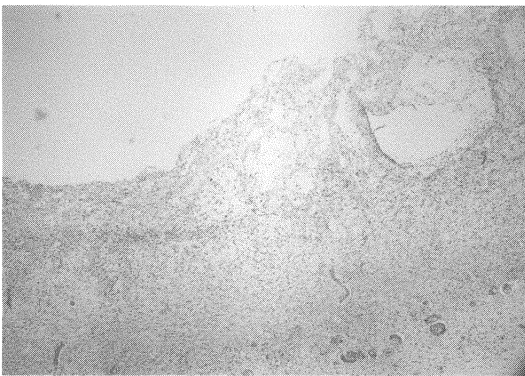


Fig. 3. Histological appearance 10 days postoperatively in Group 3 (hematoxylin and eosin stain, $\times 40$). Infiltration of fibroblasts and capillaries into the collagen sponges was observed only in the lower two-thirds of the artificial dermis. In upper section of the dermis, original sponge structure remained.

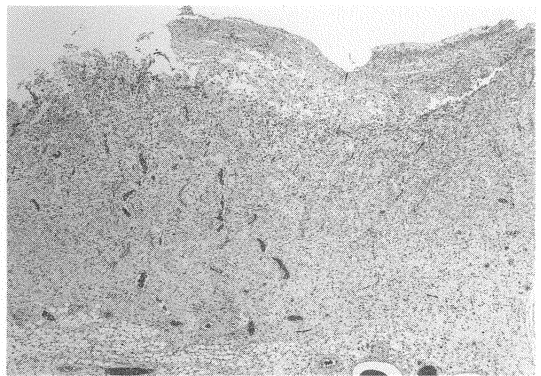


Fig. 4. Histological appearance 10 days postoperatively in Group 4 (hematoxylin and eosin stain, $\times 40$). In the lower two-thirds portion of the artificial dermis were fully infiltrated with fibroblasts and capillaries, but were not infiltrated in the upper portion.

の形成もみられた。やや深部では比較的太い血管の形成がみられた。人工真皮深層には炎症細胞の浸潤や異物反応の所見はみられなかった(Fig. 3, 4)。

コントロール群(Group 5)では、上層は空虚なコラーゲンスポンジがみられ、真皮様組織の形成は人工真皮の厚さの約2分の1にとどまった。細胞添加群にくらべると炎症細胞の浸潤が強くみられた(Fig. 5)。

さらに客観的な評価のために、すべての組織標本において新たに形成された真皮様組織の厚さ(移植人工真皮の厚さに対する割合, %)を測定し、各群の平均値±標準偏差を求めると Group 1 : 77.50±7.33 %, Group 2 : 91.00±5.29 %, Group 3 : 72.00±6.78 %, Group 4 : 70.50±4.20 %, Group 5 : 39.25±5.62 % となった。



Fig. 5. Histological appearance 10 days postoperatively in Group 5 (hematoxylin and eosin stain, ×40). Infiltration of fibroblasts and capillaries into the collagen sponges was observed less than in the lower half of the artificial dermis. High degree infiltration of inflammatory cells was seen in the upper portion of the artificial dermis.

Bonferroni/Dunn の分散分析により統計処理をおこなったところ骨髄細胞添加群(Group 1 ~ 4)では、コントロール群(Group 5)に比べて有意に高値を示した。さらに骨髄細胞添加群中では、Group 2 が他群に比べて有意に高値を示した(Fig. 6)。

以上の肉眼的および組織学的結果から、骨髄細胞添加による真皮様組織形成促進効果を示され、またその効果は細胞濃度を 10^5 cells/ml としたときに最も大きいことが示された。

考 察

人工真皮は1980年に Yannas, Burke らによって、遊離真皮の生着しない骨や腱の露出した皮膚軟部組織欠損創に対して良好な遊離真皮の移植床を得るために開発された²⁻⁵⁾。その後改良が加えられ、本邦ではテルダーミス®(テルモ社製)とベルナック®(グンゼ社製)の2つの人工真皮が発売されている。これらはコラーゲンの架橋の仕方に相違があるが、シリコン膜とコラーゲンスポンジの2層構造を持つ点は共通している。皮膚軟部組織欠

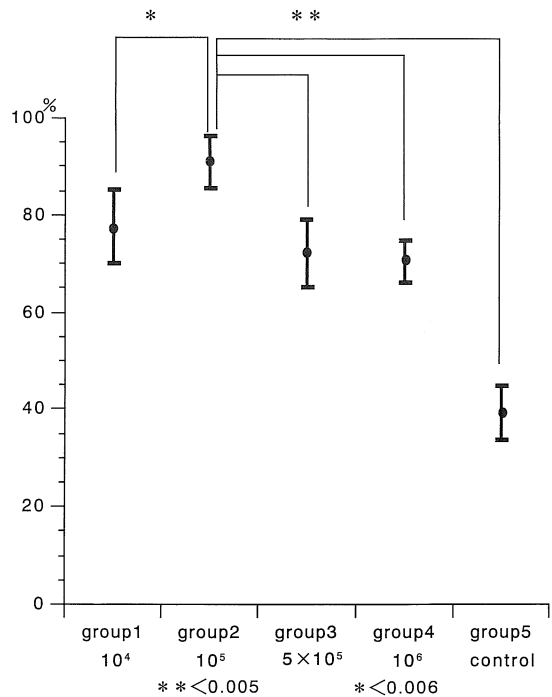


Fig. 6. Comparison of mean thickness(%) of newly synthesized dermis-like tissue among Groups 1~5.

損創にコラーゲンスポンジが密着するように貼付すると、スポンジ構造の空隙内に母床から線維芽細胞や毛細血管が侵入することにより新たにコラーゲンが産生され、もとのスポンジ構造は侵入してきた線維芽細胞や炎症細胞から産生されるコラーゲナーゼの作用により分解吸収され、次第に真皮様組織に置き換わっていく。しかしながら、真皮様組織上への二次的植皮が可能となるまでには通常2~3週間を必要とする^{6,15)}ため、治療期間は長くなり、この間は感染や体液の喪失を防ぎきれない。

このような人工真皮の欠点を補うために、人工真皮移植時の真皮様組織の形成を促進する方法としては、これまで様々なものが考案されてきた。

坂本²³⁾は、人工真皮内の血管新生を促進させる目的でプロスタグランジン E₁(PGE₁)の全身投与をおこなっている。PGE₁は強力な血管拡張作用を有するとともに血管新生を促進する作用も有すると考えられている²⁴⁾。しかしながら、人工真皮に対する効果については客観的な評価はなされておらず、また投与量についても検討されていない。

南本²⁵⁾は人工真皮に血管内皮細胞と筋線維芽細胞を播種することで血管新生が促進されたと報告し、これは血管内皮細胞や筋線維芽細胞が産生する basic fibroblast growth factor (bFGF) や、transforming growth factor β_1 (TGF- β_1) などの細胞増殖因子が作用したためと推測している。しかしながら、血管内皮細胞と筋線維芽細胞を採取する方法が、精巢上脂肪体を粉碎、コラーゲナーゼ処理するなど若干煩雑である。

副島²⁶⁾らは人工真皮移植に際して、凍結保存同種培養真皮線維芽細胞を移植床に散布することによって創傷治癒が促進され、創収縮も防げたと報告している。この場合の線維芽細胞の役割として期待されるのは、創傷治癒を促進する生理活性物質の産生・放出²⁷⁾、種々のコラーゲンやその他の細胞外基質の産生²⁸⁾、血管新生の促進²⁹⁾などが考えられている。この方法では、提供を受けた同種皮膚より得られた真皮由来の線維芽細胞をあらかじめ凍結保存しておくため、いつでも必要な時に解凍して使用できる利点があるものの、提供皮膚の不足や感染症の問題が残る。

河合³⁰⁾らは人工真皮に basic fibroblast growth factor (以下 bFGF) を添加することにより、人工真皮内への線維芽細胞の侵入増殖および血管新生が促進されたと報告した。bFGF は内、外胚葉系の様々な細胞を増殖させ、創傷治癒を促進させることが知られている³¹⁻³⁵⁾。しかし、bFGF はたんなる水溶液の添加ではその生物学的半減期は短く、徐放化させるために bFGF 含浸ゼラチン粒

子を作製するなど手技的に困難な面があり、また bFGF は極めて高価なため広範囲の人工真皮移植に適用する場合には経済的な問題も無視できない。

Maniatopoulos¹⁶⁾らは、骨髄細胞の培養の際に、培地に dexamethasone などを加えることにより骨組織が得られると報告し、吉川¹⁷⁻²⁰⁾らは、この骨組織は多孔性ハイドロキシアパタイトと複合し in vivo へ移植されても速やかに骨形成を営み続け組織工学的骨再建方法として有用であることを報告した。しかしながら、骨形成には多数の細胞を要することが報告されている。以前の報告では、 10^7 cells/ml の高濃度では良好な骨形成を示す¹⁷⁾。しかし、 10^6 cells/ml 以下では骨形成はみられず、線維組織や脂肪組織の形成がみられた。移植された細胞によって組織が形成されることは、五島らがすでに報告した³⁶⁾。

これにヒントを得て、今回われわれは、様々な分化しうる幹細胞や線維芽細胞などを多数含む培養骨髄細胞を人工真皮に添加することを考案した。この方法では、比較的少量の骨髄細胞で効果があるため広範な部位の修復が可能である。

また、その組織修復効果においても文献をみるかぎり、前述の種々の方法と比べて遜色がなく、実際の臨床応用を念頭に入れた場合には、本法は非常に有望と考えられた。ヒト骨髄細胞の培養に関しては、腸骨より 3 ml 採取することで約 7×10^6 個の細胞が得られる³⁷⁾。さらに継代培養することで細胞の増殖は可能であり、広範な真皮組織の修復が可能であり、あらたな重度熱傷患者の救命治療方法として期待される。また、表皮培養細胞をさらに人工真皮上に複合することで一期的に、重度の創傷を治癒させることも期待される。

今回、骨髄細胞濃度を 5×10^5 , 10^6 cells/ml としたときに、 10^5 cells/ml のときよりも真皮形成促進効果が劣ったことについては、細胞濃度が密に過ぎると、各細胞当たりの環境が不良となり、かえって骨髄細胞の添加効果が減少するのではないかと推察された。

結 語

人工真皮に培養骨髄細胞を含浸させ、その組織修復に及ぼす影響について検討した。

人工真皮に骨髄細胞(10^6 cells/ml)を含浸させることで、真皮様組織の形成が促進された。これにより二次的植皮までの期間を短縮することができ、ハイブリッド材料として今後臨床での応用が期待されうる。

文 献

- 1) 鈴木茂彦・一色信彦・平良達三・松田和也・黒川正

- 人・井上邦雄・月江富男・橋佐和子：再凍結乾燥型2層性人工皮膚(GM 901)の多施設における臨床使用結果. 形成外科 36 : 479-483, 1993.
- 2) Yannas, I. V. and Burke, J. F. : Design of an artificial skin. I. Basic design principles. J. Biomed. Mater. Res. 14 : 65-81, 1980.
- 3) Yannas, I. V., Burke, J. F., Gordon, P. L., Huang, C. and Rubenstein, R. H. : Design of an artificial skin. II. Control of chemical composition. J. Biomed. Mater. Res. 14 : 107-131, 1980.
- 4) Burke, J. F., Yannas, I. V., Quinby, W. C. Jr., Bondoc, C. C. and Jung, W. K. : Successful use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury. Ann. Surg. 194 : 413-428, 1981.
- 5) Burke, J. F. : Observations on the development of an artificial skin : Presidential address, 1982 American burn association meeting. J. Trauma 23 : 543-551, 1983.
- 6) 鈴木茂彦・松田和也・一色信彦・玉田 靖・筏 義人 : コラーゲンスポンジとシリコンの2層構造をもつ新しい人工皮膚について. 熱傷 13 : 322-327, 1987.
- 7) 鈴木茂彦・松田和也・一色信彦・玉田 靖・筏 義人 : Glycosaminoglycan(GAG)添加コラーゲンを用いた人工皮膚について. 形成外科 31 : 298-305, 1988.
- 8) Suzuki, S., Matsuda, K., Issiki, N., Tamada, Y., Yoshioka, K. and Ikada, Y. : Clinical evaluation of a new bilayer "artificial skin" composed of collagen sponge and silicone layer. Br. J. Plast. Surg. 43 : 47-54, 1990.
- 9) Matsuda, K., Suzuki, S., Issiki, N. and Ikada, Y. : Refreeze dried bilayer artificial skin. Biomat. 14 : 1030-1035, 1993.
- 10) Suzuki, S., Matsuda, K., Maruguchi, T., Nishimura, Y. and Ikada, Y. : Further applications of "bilayer artificial skin". Br. J. Plast. Surg. 48 : 222-229, 1995.
- 11) 大崎健一・小西 淳・後藤彰久・小出幹夫 : コラーゲンスポンジを用いた新しい人工皮膚. 人工臓器 18 : 151-154, 1989.
- 12) 大崎健一・小西 淳・池上和仁・小出幹夫 : 『人工皮膚』を用いた新しい皮膚再構成法の試み. 人工臓器 20 : 497-502, 1991.
- 13) 栗原邦弘・後藤昌子・浪川浩明・高橋美和・中村純次・佐々木憂至 : 人工真皮・真皮欠損用グラフトの治療経験. 形成外科 38 : 567-573, 1995.
- 14) 矢永 克・矢永博子・中村雅史・宮崎信平・山田康人・永田見生 : 神経, 血管, 腱の露出した外傷性組織欠損に対する人工真皮移植による治療経験. 整・災外. 41 : 263-268, 1998.
- 15) 浅見謙二 : 人工真皮と分層皮膚移植の併用に関する実験的研究. 日形会誌. 15 : 135-147, 1995.
- 16) Maniopoulos, C., Sodek, J. and Melcher, A. H. : Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats. Cell Tissue Res. 254 : 317-330, 1988.
- 17) Yoshikawa, T., Ohgushi, H. and Tamai, S. : Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. J. Biomed. Mater. Res. 32 : 481-492, 1996.
- 18) Yoshikawa, T., Ohgushi, H. and Tamai, S. : Rapid bone formation by grafting cultured bone in porous hydroxyapatite. Bioceramics 8 : 421-426, 1995.
- 19) 吉川隆章 : 整形トビックス 培養骨移植. 整形外科 47 : 745, 1996.
- 20) 吉川隆章・大串 始・玉井 進 : 骨髓細胞と活性セラミックの複合一培養骨移植. 整形外科 48 : 1138-1141, 1997.
- 21) Prockop, D. J. : Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science 276 : 71-74, 1997.
- 22) 松田和也・鈴木茂彦・一色信彦・筏 義人 : 再凍結乾燥処理した2層性人工皮膚. 熱傷 17 : 77-83, 1991.
- 23) 坂本泰子・吉田明広・浅野武雄・田中正人 : プロスタグランジン E₁ 併用による人工真皮の使用経験. 現代医療 29 : 2993-2995, 1997.
- 24) 松原 司 : 血管新生とその調節. 炎症 10 : 241-245, 1990.
- 25) 南本俊之 : 人工真皮内の血管内皮細胞と筋線維芽細胞が創傷治癒に及ぼす影響に関する実験的研究. 日形会誌. 17 : 712-722, 1997.
- 26) 副島一孝・野崎幹弘・水野元子・佐々木健司・相原薫 : 人工真皮と凍結保存同種培養真皮線維芽細胞の併用. 日形会誌. 18 : 465-472, 1998.
- 27) 山下理恵・塩谷信幸・黒柳能光 : 線維芽細胞をコラーゲンマトリックスに組み込んだ同種複合培養真皮

- シートによる熱傷治療：予備的臨床試験. 熱傷 22 : 177-184, 1996.
- 28) 武田 昇・阿部清秀・築山英嗣：同種線維芽細胞を含む人工真皮の使用経験. 熱傷 22 : 185-191, 1996.
- 29) Hansbrough, J. F., Cooper, M. L., Cohen, R., Spielvogel, R., Greenleaf, G., Bartel, R. L. and Naughton, G. : Evaluation of a biodegradable matrix containing cultured human fibroblasts as a dermal replacement beneath meshed skin grafts on athymic mice. *Surgery* 111 : 438-446, 1992.
- 30) 河合勝也・鈴木茂彦・田畑泰彦・筏 義人・西村善彦：人工真皮(ペルナック®)に対する basic fibroblast growth factor の添加効果. 熱傷 25 : 54-62, 1999.
- 31) McGee, G. S., Davidson, J. M., Buckley, A., Sommer, A., Woodward, S. C., Aquino, A. M., Barbour, R. and Demetriou, A. A. : Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. *J. Surg. Res.* 45 : 145-153, 1988.
- 32) Slavin, J., Hunt, J. A., Nash, J. R., Williams, D. F. and Kingsnorth, A. N. : Recombinant basic fibroblast growth factor in red blood cell ghosts accelerates incisional wound healing. *Br. J. Surg.* 79 : 918-921, 1992.
- 33) Klingbeil C. K., Cesar L. B. and Fiddes J. C. : Basic fibroblast growth factor accelerates tissue repair in models of impaired wound healing. *Prog. Clin. Biol. Res.* 365 : 443-458, 1991.
- 34) Okumura, M., Okuda, T., Nakamura, T. and Yajima, M. : Effect of basic fibroblast growth factor on wound healing in healing-impaired animal models. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 46 : 547-551, 1996.
- 35) Okumura M., Okuda T., Nakamura T. and Yajima M. : Acceleration of wound healing in diabetic mice by basic fibroblast growth factor. *Biol. Pharm. Bull.* 19 : 530-535, 1996.
- 36) Goshima J., Goldberg V. M. and Caplan A. I. : The origin of bone formed in composite grafts of porous calcium phosphate ceramic loaded with marrow cells. *Clin. Orthop.* 269 : 274-283, 1991.
- 37) Yoshikawa T., Ohgushi H., Uemura T., Nakajima H., Ichijima K., Tamai S. and Tateishi T. : Human marrow cells-derived cultured bone in porous ceramics. *Biomed. Mater. Eng.* 8 : 311-320, 1998.