

氏名	藤田 裕季子		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 10655 号		
学位授与年月	令和 5 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	脂肪由来幹細胞培養上清の癒痕拘縮モデルにおける収縮抑制効果に関する研究		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	小田 竜也
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	坂東 裕子
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	水谷 英二
副査	筑波大学講師	博士（農学）	蕨 栄治

論文の内容の要旨

藤田裕季子氏の博士学位論文は、脂肪由来幹細胞の培養上清の創部収縮に対する効果を検討したものである。その要旨は以下の通りである。

【目的】著者は、創傷治癒の過程で真皮内の線維芽細胞の過剰増殖とそれに伴うコラーゲン産生の亢進によって生じる癒痕拘縮を研究の対象とし、癒痕拘縮を悪化させる因子の一つとして線維芽細胞による過剰な創部収縮を挙げている。それを抑制する可能性のある物質として脂肪由来幹細胞の培養上清 (ASC-CM) を挙げ、そのコラーゲン収縮に対する効果を検証することを目的としている。

【方法】著者は、線維芽細胞包埋コラーゲンゲル (FPCL) を用いてその収縮過程が創部収縮のモデルとして妥当であるかどうかを検証し、さらにそれを用いて ASC-CM のコラーゲン収縮に対する効果を検証している。

1) 癒痕収縮モデルの評価

著者は患者ケロイド組織から樹立した線維芽細胞をコラーゲン溶液に包埋して FPCL を作成し、定量的リアルタイムPCR (qPCR) にて単層培養と比較した 3 次元培養の優位性を評価している。さらに癒痕収縮モデルとしての妥当性を、組織切片および収縮過程における RNA シーケンシング (RNA-seq) による遺伝子発現変化解析にて評価している。

2) ASC-CM のコラーゲン収縮に対する効果の検証

24 ウェルプレートに FPCL を作製し、DMEM で培養した FPCL をコントロールとして ASC-CM で培養した FPCL の面積の経時的変化を比較している。また組織切片により収縮後の FPCL を形態学的に評価し、収縮過程における遺伝子発現変化を qPCR および RNA-seq で評価している。

【結果】著者は、FPCL での培養により *ACTA2* や *COL1A1* といった癒痕に関連する遺伝子発現が、単層培養時の線維芽細胞と比べて有意に上昇することを証明している。組織切片では癒痕組織と類似したコラーゲン凝集を認め、RNA-seq による遺伝子発現解析では、細胞分裂に始まり、次に炎症への反応性へと移行し、最終的に細胞外マトリックスの合成へと変化することを示し、FPCL の収縮過程における変化がヒトの癒痕形成の過程と類似することを確認している。

また著者は、ASC-CM で培養した FPCL はコントロール群と比較して 4 日目以降に有意に FPCL の収縮が抑制されたことを示している。組織切片による評価では、ASC-CM 培養群では細胞数が減少し、コラーゲン凝集が

抑制されていたと述べている。RNA-seq による遺伝子発現解析では、ASC-CM 培養群では収縮初期には炎症性サイトカインの発現やケモカインへの反応性に関する遺伝子発現が抑制され、後期にはコラーゲンや細胞外マトリックス合成に関する遺伝子発現が抑制されていることを確認している。

【考察】著者は、ヒトのケロイド組織より単離した線維芽細胞を用いて FPCL モデルを作製し、組織学的特徴と収縮過程における遺伝子発現変化の特徴が生体の創傷治癒過程と類似していることから、このモデルの癒痕収縮モデルとしての妥当性を示している。一方で、本モデルはコラーゲンと線維芽細胞のみで構成されたごく単純なモデルであり、今後は炎症細胞の追加や血管構造の構築、力学的ストレスの追加など、生体の皮膚により近い状態を再現したモデルへ改善の余地があることにも言及している。

また著者は、過剰な創部収縮の抑制に ASC-CM が応用できる可能性をこのモデルを用いて示している。その機序としては、線維芽細胞の炎症への感受性を低下させることにより、細胞増殖を抑制させ、最終的にコラーゲンの増生を抑制できる可能性を、遺伝子発現解析から示している。本研究で得られた成果から、コラーゲン収縮に関与する分子の可能性が見いだされ、既存の分子標的薬を癒痕治療に応用できる可能性についても言及している。

【結論】以上のように、著者はFPCLの癒痕収縮モデルとしての有用性を示し、さらに本モデルを用いてASC-CMによる癒痕収縮に対する抑制効果とその機序を明らかにしている。

審査の結果の要旨

(批評)

創傷の治癒後の癒痕拘縮(ケロイド)は、真皮内の線維芽細胞の過剰増殖とそれに伴うコラーゲン産生の亢進に起きる事は知られていたが、それを抑制する有効な方策はまだ無い医学上の未解決課題の一つである。藤田裕季子氏の研究は、その創部収縮のモデルの妥当性を示した上に、脂肪由来幹細胞の培養上清がケロイドを抑制する可能性を示している。ケロイド研究において、独創性の高い新たな視点を切り拓くものとして高く評価できる。

令和4年12月27日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。