

氏 名 柳林 聡
 学位の種類 博士 (医学)
 学位記番号 博乙第 2790 号
 学位授与年月 平成 28年 3月 25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 審査研究科 人間総合科学研究科
 学位論文題目 Hydrocolloid-sheet composed of alginate, chitin/chitosan
 and fucoidan as wound dressing stimulates wound healing in diabetic *db/db*
 mice

(遺伝性糖尿病マウスの皮膚潰瘍に対し創傷治癒促進効果を発揮するアルギン酸、
 キチン・キトサン、フコイダン配合ハイドロコロイドシートの研究)

主	査	筑波大学教授	博士 (医学)	藤本 学
副	査	筑波大学教授	博士 (医学)	西山 博之
副	査	筑波大学講師	博士 (理学)	松田 学
副	査	筑波大学講師	博士 (医学)	西村 文吾

論文の内容の要旨

(目的)

遺伝性糖尿病マウスである *db/db* マウスの背部に皮膚潰瘍を作製し、アルギン酸、キチン・キトサンおよびフコイダンを配合した創傷被覆材(ACF-HS) 貼付群の難治性糖尿病性皮膚潰瘍モデルに対する創傷治癒促進効果を、すでに臨床使用されているハイドロコロイド製剤の ABSOCURE-surgical®貼付群および被覆材なしの control 群とで比較検討することである。

(対象と方法)

6~8週齢の *db/db* マウスの背部に直径 8mm となるように調整した円形的全層皮膚欠損を左右対称に 1 個ずつ計 2 個作製した。ACF-HS 群、Hydrocolloid 群、および control 群の 3 群に分けて創傷治癒過程を観察した。4、7 日目に新しい被覆材に貼りかえ、その後、9 日目に被覆材を除去し、以降は創の乾燥を防ぐためプラスチックシートのみを貼付して創を 14 日目まで観察した。潰瘍面積は潰瘍の長径を直径とみなし、潰瘍を正円形として面積を計測し統計学的解析をおこなった。また、組織学的検討を加えるために、4 日目、9 日目、14 日目にそれぞれの潰瘍部分を全層で切除し、HE 染色により肉芽の厚

審査様式 2 - 2

さ、新生血管数を計測し、得られた標本の肉芽の厚さ、新生血管数についても統計学的解析をおこなった。4日目の検体については VEGF および FGF-2 の免疫染色を別途おこなった。

(結果)

db/db マウス背部の皮膚潰瘍は、ACF-HS 群、Hydrocolloid 群、control 群ともに4日目までは創収縮に有意差がみられなかったが、4日目以降は ACF-HS 群の潰瘍面積および長径（直径）が有意に縮小していった。14日目は、ACF-HS 群と Hydrocolloid 群間には有意差がなかったが、control 群に対しては有意差が認められた。組織学的には4日目の ACF-HS 群の HE 染色では、肉芽組織の増生や毛細血管新生が他の2群よりも多く観察された。この傾向は9日目、14日目の検体でも同様に観察できた。肉芽増生、毛細血管新生に関して ACF-HS 群は Hydrocolloid 群、control 群両方に対して有意差が認められた。

また、4日目の検体で施行した免疫染色では、VEGF 染色ではバックグラウンドが高く正確な評価は困難であったが、ACF-HS 群では、新生血管と思われる組織の周囲で VEGF 様シグナルを示す細胞が Hydrocolloid 群よりも多くみられた。また、control 群については VEGF 様シグナルを示す細胞はほとんど観察できなかった。FGF-2 の免疫染色でも同様の傾向がみられ、ACF-HS 群では Hydrocolloid 群よりも新生血管や肉芽組織周囲で陽性シグナルが多く観察される傾向があり、control 群では陽性シグナルはほとんど検出されなかった。

(考察)

ACF-HS の創傷治癒促進効果は貼付後すぐには観察されず、はじめの4日間は創収縮についても3群間に大きな差はみられなかった。しかし、貼付後4日を過ぎると創収縮に有意差が認められるようになり、また、新生血管数および肉芽形成厚にも有意差が認められるようになった。14日目での創収縮に関しては ACF-HS 群と Hydrocolloid 群間では有意差がみられないが、同じ14日目でも肉芽形成厚や新生血管数に関しては有意に ACF-HS 群が優れていた。すなわち、ACF-HS 群と Hydrocolloid 群では創閉鎖の速さは変わらないにもかかわらず、ACF-HS 群では再生した組織は厚みがあり、しかも再生組織の血流が豊富であると言える。このことから、ACF-HS 群は Hydrocolloid 群よりも物理的な刺激や感染に対する抵抗力が高いことが予想され、糖尿病性潰瘍の再発予防という点で優れた効果をもつものと期待される。このように、ACF-HS は Hydrocolloid を超える優れた創傷治癒促進効果をもつことが示唆された。

創傷治癒過程の最初のステップである炎症相において ACF-HS が炎症細胞の誘導を活性化し、FGF-2、VEGF、TGF- β などの血管新生や肉芽形成に重要な増殖因子の分泌が惹起される。そこで ACF-HS の特長である液体成分の吸収・保持性に優れた効果によって増殖因子を含んだ浸出液を吸収・保持することが可能となり、炎症相の次のステップである増殖相において、それらを持続的に潰瘍面に作用させ血管新生や肉芽形成、上皮化の促進へとつながったと推察される。この過程が ACF-HS が難治性糖尿病性皮膚潰瘍の創傷治癒を促進できる仕組みの一つであると考えられる。本研究モデルは、実際に治療する機会の多い糖尿病性足病変(DFUs)と病態が同一ではないが、DFUs の病因は潰瘍面での増殖因子と血管新生能の低下と考えられており、ACF-HS の創傷治癒促進効果は DFUs でも効果を発揮できると考えられる。

審査様式 2 - 2

ACF-HS は、優れた吸水作用によって膨化し、死腔を充填可能で、キチン・キトサンの抗菌活性とともに感染制御機能を発揮し、アルギン酸の止血作用により血腫形成を抑制できる。また潰瘍面に湿潤環境を提供でき、かつ固着しないので潰瘍面の安静を保てるのも利点である。さらに、ACF-HS は炎症細胞を活性化し、潰瘍面に不足している FGF-2 や VEGF などの増殖因子の分泌を促し、フコイダンがそれら増殖因子を創面に保持することにより創傷治癒が促進される。ただし、フコイダンの創傷治癒促進作用に関しては、ACF-HS と ACF-HS からフコイダンを除いた被覆材とでの効果の差を検証する必要があるだろう。

それぞれの構成成分の特長が発揮された結果、今までの創傷被覆材にはみられない多元的な創傷治癒促進作用が ACF-HS には認められた。ACF-HS は、保存的加療では治癒困難といわれているような難治性糖尿病性皮膚潰瘍に対しても、創傷治癒を促進する可能性を有した創傷被覆材であり、今後の臨床応用が期待される。

審査の結果の要旨

(批評)

難治性糖尿病性皮膚潰瘍の保存的治療においてアルギン酸、キチン・キトサンおよびフコイダンを配合した創傷被覆材が創傷治癒を促進することを明らかにした論文である。再生組織の肉芽の厚さや新生血管数を病理学的に検討を行い、創傷治癒促進物質である FGF-2 と VEGF の発現についても考察されており、非常に興味深い結果が得られている。これらの研究成果は、難治性皮膚潰瘍の治療に対する新規の戦略を考える上で非常に重要な知見であり、高く評価されるとともに、今後の臨床応用が期待される。

平成 28 年 2 月 2 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、学力の確認を行った。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。