

京都大学	博士 (医学)	氏名	伊藤 蘭
論文題目	Adipogenesis using human adipose tissue-derived stem cells sustaining release of basic fibroblast growth factor (脂肪由来幹細胞、徐放性線維芽細胞増殖因子を用いた脂肪形成)		
(論文内容の要旨)			
<p>線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放能をもつコラーゲン/ゼラチンスポンジ (CGS) の使用により、従来のコラーゲンスポンジ(CS)の2～3倍の速度で真皮様組織の再生が促進されることが確認されている。他方、乳癌患者の増加と若年化に伴い乳癌切除術後の乳房再建術への意識が高まり、様々な乳房再建術が報告されている。また、近年の再生医療技術の発達に伴い、細胞、足場、成長因子を組み合わせることによる組織再生が可能となり、脂肪由来幹細胞(ASCs)の応用による乳房再建術が期待されている。本研究では、ASCsを播種したCGSを用い、CGSによる脂肪形成の検証を行った。また、脂肪形成を評価する方法として、検体を採取し評価するという従来の方法と比較して侵襲の少ないLaser Doppler Imaging (LDI)を用い、経時的に皮下の微小循環を測定することによる間接的な評価方法の妥当性を検証した。</p> <p>0.3wt%コラーゲン溶液90に対し3wt%の酸性ゼラチン溶液1を加え攪拌混合して凍結させ、さらにこれを凍結乾燥させることで10%のゼラチンを含むCGSを作成した。他方、京都大学医学部附属病院で予め同意の得られた乳癌患者の手術中に採取した脂肪組織をコラゲナーゼ処理し、ASCsを分離してPKH26で標識した。CGSは径8mm厚さ3mmを用い、異なる濃度のbFGF(0.1, 1, 7, 14<math>\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>)あるいは生理食塩水を含浸した。その後、3継代の標識された細胞を<math>1 \times 10^5 \text{cells}/\text{cm}^2</math>の濃度でCGSに播種し、ヌードマウスの背部皮下に埋入した。移植後6週目に検体を採取し、形成された脂肪組織の重量、および断面積を測定した。また、Von Willebrand factor染色を用い、新生血管面積を測定した。さらに、移植6週間後まで毎週、LDIで移植部の組織血流値を測定した。</p> <p>移植6週間後にすべての群で脂肪形成が確認された。蛍光顕微鏡下で再生脂肪組織はPKH陽性を示し、これにより、移植したヒトのASCsが脂肪に分化し、脂肪組織を形成したことが確認された。移植6週間後において、形成された脂肪組織の重量と断面積はbFGFが<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>の時に最大であった。またVon Willebrand factor染色による新生血管断面積もbFGFが<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>の時に最大であった。また、bFGF <math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>を含浸したCGSは、同濃度のbFGFを含浸した従来のCSと比較して脂肪形成を有意に促進した。すなわち、bFGFの徐放による脂肪形成の促進が確認された。LDIによる測定でも同様に、移植6週間後においてbFGFが<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>の時に最も高い血流値を示し、上記の組織所見とLDIの結果は相関していた。</p> <p>本研究は、bFGFを含浸したCGSにより脂肪組織が形成されることを証明した。bFGFの脂肪形成における至適濃度は<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>であり、bFGF徐放能をもつCGSは従来のCSより血管新生、および脂肪形成を促進することが確認された。また、LDIにより経時</p>			

<p>的、非侵襲的な方法で皮下の組織形成を評価し得ることが確認された。この脂肪形成技術は、新たな乳房再建術としてだけでなく、外傷や外科手術後の再建など臨床の幅広い分野への応用の可能性が期待される。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放能をもつコラーゲン/ゼラチンスポンジ(CGS)の使用により、従来のコラーゲンスポンジ(CS)の2～3倍の速度で真皮様組織の再生が促進されることが確認されている。他方、近年の再生医療技術の発達に伴い、脂肪由来幹細胞(ASCs)の応用による乳房再建術が期待されている。本研究では、ASCsを播種したCGSを用い、CGSによる脂肪形成の検証を行った。</p> <p>CGS(径8mm、厚さ3mm)に異なる濃度のbFGF(0.1, 1, 7, 14<math>\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>)あるいは生理食塩水を含浸した。その後、3継代のPKHで標識したASCsを<math>1 \times 10^5 \text{cells}/\text{cm}^2</math>の濃度でCGSに播種し、ヌードマウスの背部皮下に埋入した。移植後3, 6週目に形成された脂肪組織の重量、および断面積、新生血管断面積の評価を行った。さらに、移植6週間後まで毎週、Laser Doppler Imaging (LDI)で移植部の組織血流値を測定した。</p> <p>全評価項目でbFGF含浸群は対照群よりもすぐれていた。また、bFGF<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>を含浸したCGSは、同濃度のbFGFを含浸した従来のCSと比較して脂肪形成を有意に促進した。</p> <p>本研究は、bFGFを含浸したCGSにより脂肪組織が形成されることを証明した。本実験系におけるbFGFの脂肪形成促進のおよその至適濃度は<math>1\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>であり、bFGF徐放能をもつCGSは従来のCSより血管新生およびASCsからの脂肪形成を促進することが確認された。また、LDIにより経時的、非侵襲的な方法で皮下の組織形成を評価し得ることが確認された。</p> <p>以上の研究は新たな脂肪再生方法の確立に貢献し、新たな乳房再建術などの臨床分野への応用に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成26年1月8日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--

要旨公開可能日：平成26年 6月22日 以降