

氏名	カナ イ ノブ オ 金 井 信 雄
学位の種類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 537 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Fabricated autologous epidermal cell sheet for prevention of esophageal stricture after circumferential ESD in swine model (培養自家表皮細胞シートを用いた食道全周 ESD 後の狭窄予防に関する研究)
主論文公表誌	Gastrointestinal Endoscopy 投稿中
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 光夫 (副査) 教授 山本 雅一, 川島 眞

論文内容の要旨

〔目的〕

内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) はリンパ節転移のない早期食道癌の低侵襲治療として広く普及している。しかしながら, ESD で広範囲に粘膜を切除する場合, 術後食道狭窄が合併症として生じ, これを予防する研究が複数報告されている。本学では, イヌモデルを用い, 培養自家口腔粘膜細胞シートを ESD 直後の人工潰瘍に経内視鏡的に移植する研究を報告している。細胞シートの移植による治療効果が認められたため, 2008 年からヒト臨床研究 10 例を行い, 現在その成果を報告する論文を投稿中である。本再生医療的治療は, 食道癌のみならず, 欧米人に多いバレット食道も適応となると考え, 現在, 欧州で臨床研究を準備中であり, 技術移転をほぼ完了した。これまでの研究では, 自家口腔粘膜上皮組織を細胞ソースとしてきたが, 自家口腔粘膜は切除範囲に限りがあるため, 本研究では, 皮膚表皮を細胞ソースとして同様の治療効果が得られるかを, ブタモデルを用いて検証した。

〔対象および方法〕

実験動物としてミニブタ (メス, 16~20 kg) を用い, 実験時は全身麻酔にて管理した。ミニブタの下腹部皮膚を採取し, 表皮細胞を単離後, 温度応答性カルチャーインサート上に播種した。37℃ で 2 週間培養した後, 低温処理により培養表皮細胞シートとして回収した。胸部中部食道に 4cm 長の全周 ESD を施行し, 移植群 (n=4) は潰瘍の中心部に表皮細胞シート 1 枚を内視鏡的に移植し, 対照群 (n=4) は無処置とした。術後経時的に内視鏡で観察した他, 各群 1 頭は 1 週間後に, 残りの各群 3 頭は 2 週間後に犠死させた。術前後の体重増加率, 狭窄の程度, 炎症細胞数, 病理組織学的検討を行った。狭窄率は以下の式により評価した。

$$\text{狭窄率 (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\text{最狭窄部位の食道粘膜短軸の長さ}}{\text{正常部位の食道粘膜短軸の長さ}} \right\} \times 100$$

〔結果〕

術後 2 週での体重減少率は対照群 $-10.3 \pm 2.1\%$, 移植群 $0.3 \pm 2.5\%$ で有意差を認めた ($p=0.03$)。狭窄率は対照群 $88 \pm 1.5\%$, 移植群 $56 \pm 7.5\%$ であった ($p<0.01$)。対照群はすべて高度な術後狭窄をきたしていた。病理組織学的検討では, 対照群は潰瘍中心部に上皮化を認めず, 粘膜下層は肥厚し筋層にまで線維化が及んでいたが, 移植群は移植部位にて上皮化が認められ, 粘膜下層の線維化は対照群に比べ軽度であった。潰瘍中心部の炎症細胞数は, 移植群が対照群より少なかった ($p<0.01$)。蛍光色素 PKH26GL で標識した培養表皮細胞シートを移植したブタは, 術後 1 週間においても, 蛍光標識した細胞を移植部位に認めた。

〔結論〕

培養自家表皮細胞シート移植は口腔粘膜細胞シートと同様に ESD 後の上皮再生を促し術後狭窄予防効果が認められた。細胞シートを用いた再生医療的治療における細胞ソースの新たな選択肢を確立できた。

論文審査の要旨

申請者の所属する研究所では、内視鏡的粘膜切除術による人工食道潰瘍に対して自家口腔粘膜上皮細胞シートを用いての臨床研究が行われ、狭窄の防止と治癒の促進に成功している。申請者はさらにこの再生治療の一般化を目指し、他の細胞ソースとして皮膚の表皮細胞適用の可能性を大動物モデルでの一連の作製と移植手法を開発し、自家培養皮膚細胞シート移植による狭窄防止を追究した。

この結果により、臨床での食道内視鏡治療後人工潰瘍の再生医療的アプローチにおいて、口腔粘膜細胞だけでなく皮膚表皮細胞も細胞ソースとして使える選択肢を実験的に明確にした。また、広範囲切除病変において多くの細胞シートが作製可能となっただけでなく、将来的に他家移植による産業化・工学製品などの観点からもより有益であることが示された。

以上により、きわめてユニークな移植細胞シート再生治療の可能性を明らかにし、再生治療の普及の可能性に加え同種細胞シートの利用の可能性を示唆する研究は高く評価され、博士論文に相応しいものと判定した。

63

氏名	佐藤裕子
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第538号
学位授与の日付	平成24年3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Glucocorticoid therapy in Duchenne muscular dystrophy-improvement of psychomotor function (Duchenne型筋ジストロフィーの副腎皮質ステロイド療法による運動機能と知能への影響)
主論文公表誌	Brain & Development 投稿中
論文審査委員	(主査) 教授 齋藤加代子 (副査) 教授 大澤真木子, 柴田 亮行

論文内容の要旨

〔目的〕

Duchenne型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy : DMD)は進行性の筋力低下と筋萎縮を主症状とする筋原性の疾患である。DMDは正常知能を示す例から有意語がなく重度の言語発達遅滞を示す知能障害を示す例が存在するが、DMDにおける知能障害の病因は明らかになっていない。現在、薬物療法として副腎皮質ステロイド(prednisolone : PSL)の投与が行われている。

本研究ではDMD患児へのPSL投与の影響について明らかにするために、運動機能と知能(intelligence quotient : IQ)を含む、DMDの臨床所見と遺伝子変異について検討した。

〔対象と方法〕

1. DMD患児28例(5~7歳)を対象として遺伝子変異を解析する。変異同定方法は、Multiplex PCR法、MLPA法、cDNAダイレクトシーケンスを行った。

2. 対象は、PSL投与群20例(5~7歳)とPSL非投与群8例(5~7歳)のDMD患児とした。分析内容はPSL経口投与治療前と治療6ヵ月から2年の運動機能の評価として徒手筋力テスト(manual muscle testing : MMT)、起立所要時間、血清creatin kinase(CK)値、知能障害の評価としIQ値を比較検討した。さらに、投与群においては脳性利尿ナトリウムペプチド(brain natriuretic peptide : BNP)値、心臓エコー検査による左室内径短縮率(left ventricular shortening fraction : LVSF)についての分析をした。