

(様式3号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 吉峯 宗大

〔題名〕

Autologous multilayered fibroblast sheets can reinforce bronchial stump in a rat model

(ラット動物モデルにおける自家積層線維芽細胞シートがもたらす気管支断端の補強効果)

〔要旨〕

【背景】気管支断端瘻は肺切除後の重篤な合併症であり、気管支断端の不十分な治癒が原因と推察されているが、有効な予防法は確立されていない。当研究室では、難治性皮膚潰瘍に対する積層線維芽細胞シートによる創傷治癒、血管新生促進効果を小中型動物モデルで証明している。そこで、ラット気管支断端モデルで積層線維芽細胞シートの移植による気管支断端の補強効果を検証した。

【方法】口腔粘膜組織より線維芽細胞を単離し、細胞シートを作製した。左肺全摘を行うことで気管支断端モデルを作製し、細胞シートを自家移植した。7、14、28 日後に標本を摘出し、細胞シート移植の有無による気管支断端の変化を肉眼的、組織学的、力学的に比較した。また、細胞シートによる組織修復の機序を検証するため、細胞シートが分泌する創傷治癒に関わる成長因子、サイトカインを ELISA 法で測定した。更に、GFP 遺伝子を導入した細胞シートを用いて、移植した細胞シートの残存性を検証した。

【結果】非移植群の気管支断端はほぼ露出されたままであったが、移植群の気管支断端は新生組織で被覆されていた。いずれのタイミングでも、移植群では新生組織を含む気管支壁が有意に厚くなり、多くの血管構造を含んでいた。気管支断端の耐圧試験では、非移植群では全ての標本で気管支断端からエアリークが生じたが、移植群では 300 mmHg までの加圧でエアリークが生じた標本はなく、その耐圧値は移植群が有意に高かった。ELISA 法では、VEGF や HGF、TGF- β などの組織修復に重要な成長因子やサイトカインが細胞シートから分泌されていることが示された。移植した GFP 遺伝子導入細胞は術後 3 日目には残存していたが、7 日目の時点では確認できなかった。

【結語】自家積層線維芽細胞シートの移植により、気管支断端周囲に血管新生を伴った結合組織が形成され、力学的な補強効果があることが示された。本法は気管支断端瘻の真に有効な予防法となる可能性がある。

学位論文審査の結果の要旨

令和4年1月5日

報告番号	甲 第 1639 号	氏 名	吉峯 宗大
論文審査担当者	主査教授	白澤文吾	
	副査教授	池田 栄二	
	副査教授	濱野 公一	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Autologous multilayered fibroblast sheets can reinforce bronchial stump in a rat model (ラット動物モデルにおける自家積層線維芽細胞シートがもたらす気管支断端の補強効果)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Autologous multilayered fibroblast sheets can reinforce bronchial stump in a rat model (ラット動物モデルにおける自家積層線維芽細胞シートがもたらす気管支断端の補強効果) 掲載雑誌名 Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery Available online 10 March 2021 In Press, Corrected Proof (令和3年3月 Article in Press オンライン公開)			
(論文審査の要旨) <p>気管支断端瘻は気管支断端の不十分な治癒や虚血が原因となる重篤な術後合併症であるが、有効な予防法は確立されていない。当講座では、難治性皮膚潰瘍に対する積層線維芽細胞シートの創傷治癒、血管新生促進効果を小中型動物モデルで証明している。そこで、ラット気管支断端モデルで積層線維芽細胞シートの移植による気管支断端の補強効果を検証した。口腔粘膜組織より線維芽細胞を単離し、細胞シートを作製した。左肺全摘を行うことで気管支断端を作製し、細胞シートを自家移植し、細胞シート移植の有無による気管支断端の変化を肉眼的、組織学的、力学的に比較した。また、細胞シートによる組織修復の機序を検証するため、細胞シートが分泌する創傷治癒に関わる成長因子、サイトカインを ELISA 法で測定した。更に、GFP 遺伝子を導入した細胞シートを用いて、移植した細胞シートの残存性を検証した。摘出標本を比較すると、非移植群の気管支断端はほぼ露出されたままであったが、移植群の気管支断端は新生組織で被覆されていた。いずれのタイミングでも、移植群では新生組織を含む気管支壁が有意に厚くなり、多くの血管構造を含んでいた。気管支断端の耐圧試験では、非移植群では全ての標本で気管支断端からエアリークが生じたが、移植群では 300 mmHg までの加圧でエアリークが生じた標本はなく、その耐圧値は移植群が有意に高かった。ELISA 法では、VEGF や HGF、TGF-β などの組織修復に重要な成長因子やサイトカインが細胞シートから分泌されていることが示された。また、移植した GFP 遺伝子導入細胞は術後 3 日目には残存していたが、7 日目の時点では確認できなかった。これらの結果から、積層線維芽細胞シートはパラクライン効果によって、気管支断端周囲に血管新生を伴った結合組織を形成し、力学的な補強効果があることが示された。本法は気管支断端瘻の発生原因にマッチした理論的で有効な予防法となることが示唆された。</p> <p>本研究は、予防法が確立されていない気管支断端瘻に対する積層線維芽細胞シートの有効性を示した論文であり、学位論文として価値あるものとして認めた。</p>			