

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 坂本 龍之介

〔題名〕

Development of frozen-thawed allogeneic fibroblast sheets for esophageal anastomotic leakage

(食道縫合不全に対する凍結解凍他家線維芽細胞シート移植を用いた治療法の開発)

〔要旨〕

食道の縫合不全は食道癌の術後に生じる重篤な合併症であるが、有効な予防法は未だに確立されていない。これまでの研究において、我々の研究室で開発した他家積層線維芽細胞シートは、種々の成長因子を分泌し、創傷治癒を促進させることを証明してきた。臨床応用を目指すには、細胞シートの長期保存方法を確立することが不可欠であるため、我々は 3D フリーザーを用いた凍結保存に着目した。本研究の目的は、凍結保存した他家積層線維芽細胞シートが、食道縫合不全の予防に有効かどうかを評価することである。

本研究ではラット口腔粘膜由来の線維芽細胞から積層線維芽細胞シートを作製し、3D フリーザーを用いて凍結保存した。ラットの食道を切離し、3 点結節縫合を行うことで縫合モデルを作製し、縫合部に自然解凍した 2 枚の他家積層線維芽細胞シートを移植した。術後に縫合不全の発生率、耐圧能、組織学的所見、コラーゲン量を評価した。

その結果、他家積層線維芽細胞シート群では、コントロール群と比較して、縫合不全の発生率が有意に低下し（コントロール群：11/18 例、61% vs. シート群：5/18 例、28% ; $p=0.02$ ）、耐圧能はシート群で有意に高値を示した（コントロール群： 78 ± 26 mmHg vs. シート群： 124 ± 30 mmHg ; $p < 0.01$ ）。食道縫合部におけるコラーゲン量はシート群で増加し（コントロール群： $0.09 [0.05-0.13] \mu\text{g}$ vs. シート群： $0.15 [0.11-0.17] \mu\text{g}$; $p=0.04$ ）、病理学的にも縫合部の粘膜下層における膠原線維の断面積はシート群で有意に増加していた（コントロール群： $0.41 [0.37-0.44] \text{mm}^2/\text{mm}^2$ vs. シート群： $0.53 [0.49-0.58] \text{mm}^2/\text{mm}^2$; $p < 0.01$ ）。

凍結保存した他家積層線維芽細胞シートの移植は、縫合不全の発生率や耐圧能を改善し、組織コラーゲン量を増加させる効果を示した。これらの結果は、線維芽細胞シートの移植が食道縫合不全の新たな予防法となり得る可能性を示した。

学位論文審査の結果の要旨

令和7年11月27日

報告番号	医博甲第1754号	氏名	坂本 龍之介
論文審査担当者	主査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	白澤 文吾	
	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。) Development of frozen-thawed allogeneic fibroblast sheets for esophageal anastomotic leakage (食道縫合不全に対する凍結解凍他家線維芽細胞シート移植を用いた治療法の開発)			
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。) Development of frozen-thawed allogeneic fibroblast sheets for esophageal anastomotic leakage (食道縫合不全に対する凍結解凍他家線維芽細胞シート移植を用いた治療法の開発) 掲載雑誌名 Surgery, Vol.186 109538 (2025年7月 掲載) 著者 (全員を記載) Ryunosuke Sakamoto, Koji Ueno, Yoshihiro Takemoto, Hiroshi Kurazumi, Yuya Tanaka, Keita Yoshida, Wataru Kawai, Atsunori Oga, Taro Takami, Kimikazu Hamano			
(論文審査の要旨) (背景) 食道の縫合不全は食道癌の術後に生じる重篤な合併症であるが、その有効な予防法は未だに確立されていない。これまでの研究で、申請者らの研究室で開発した他家積層線維芽細胞シートが、種々の成長因子を分泌し、そのパラクライン効果により創傷治癒を促進させることを明らかにしてきた。今後、臨床応用を目指すには、細胞シートの長期保存方法を確立することが不可欠であるため、3Dフリーザーを用いた他家積層線維芽細胞シートの凍結保存に着目した。本研究では、凍結保存した他家積層線維芽細胞シートが、食道縫合不全の予防に有効かどうかを検討している。 (方法) ラット口腔粘膜由来の線維芽細胞から積層線維芽細胞シートを作製し、3Dフリーザーを用いて凍結保存した。ラットの食道を切離し、3点結節縫合を行うことで縫合モデルを作製し、縫合部に自然解凍した2枚の他家積層線維芽細胞シートを移植した。術後3日目、5日目に縫合不全の発生率、耐圧能、組織学的所見、縫合部組織のコラーゲン量を計測し評価した。 (結果) 他家積層線維芽細胞シートは解凍後もVEGFやHGF、TGF- β 1、FGF-2といった成長因子を分泌していた。他家積層線維芽細胞シート群はコントロール群と比較して、縫合不全の発生率を有意に低下させた。また細胞シートを貼付することで耐圧能の上昇と膿瘍形成を抑制させる効果を示した。組織学的評価では、細胞シート群で炎症細胞の早期の消退や膠原線維の増生が認められた。食道縫合部におけるI型コラーゲン量は細胞シート群で有意に増加し、病理学的にも縫合部の粘膜下層における膠原線維の断面積はシート群で有意に増加していた。 (結論) 凍結保存した他家積層線維芽細胞シートの移植は、縫合不全の発生率や耐圧能を改善し、組織コラーゲン量を増加させる効果を示した。これらの結果は、積層線維芽細胞シートの移植が食道縫合不全の新たな予防法となり得る可能性を示すものであり、学位論文として十分に価値あるものと認めた。			