

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 啓 介

本論文は、再生医療に用いられる異物被包化組織体である biosheet の組織再生メカニズムを解析した初めての研究の報告である。biosheet の細胞、タンパク質の解析を行い、その中で肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) に着目し、biosheet を用いたマウス皮膚再生モデルを用いて biosheet の皮膚再生と HGF の関連性について示した。

生体内に侵入した異物は免疫・炎症反応により線維性組織により被包化される。生体内組織形成術 (in-body tissue architecture, iBTA) はこの現象を利用して、生体の皮下組織に非吸収性の鋳型を埋入し、周囲に線維性組織体を作成させる手法である。チューブ型の biotube やシート型の biosheet が作成され、再生医療の材料として臓器欠損に移植すると臓器に応じた組織再生が生じることが報告されている。biotube が主に血管再生に応用されてきたが、本論文提出者らは小児外科疾患に対する再生医療に応用することを目指し、biosheet を用いた気管の軟骨や上皮の再生、横隔膜の横紋筋組織の再生を報告してきた。しかし、血管以外の臓器では十分に安定した再生が難しく臨床応用が達成されていないことから、本研究では組織再生に適した biosheet の作成条件を見出すために、その組織再生メカニズムを解明することを目的としている。

本研究ではまず、マウスの biosheet の細胞・タンパク質を解析し、鋳型移植前の皮下組織である fascia と比較して上昇している再生関連因子を検索した。第 1 章では biosheet から細胞を単離し、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem/stromal cell, MSC) に着目し解析を行った。① フローサイトメトリー解析により biosheet 中に MSC に特徴的な複数の細胞表面マーカーに共陽性を示す細胞集団が存在すること、② 分化誘導実験により骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞へと分化する細胞が存在することを確認し、biosheet に MSC が存在する可能性を示した。

第 2 章では biosheet に対してプロテオーム解析を行い、fascia と比較して biosheet で 1000 種類以上のタンパク質が上昇していることを確認した。その中で、組織再生に関連する生理作用を有するタンパク質として肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) や Tenascin-C などが候補に挙げられた。さらに、ELISA 法による定量で biosheet に fascia の 10 倍以上の HGF が含まれること、免疫組織化学染色により biosheet が HGF や受容体の c-MET に陽性の細胞や組織を有することを示した。

第 3 章では HGF と biosheet の組織再生との関連性についてモデル動物を作成し検討し

た。本章では、マウスの背部に皮膚全層欠損を作成し biosheet を移植すると fascia を移植した場合と比較して表皮再生が促進される、biosheet のマウス皮膚再生モデルを新たに確立した。このモデルマウスを用いて、① biosheet を移植した後に皮膚欠損部に形成された組織が HGF や c-MET に陽性を示し血管新生を伴うこと、② fascia を移植した皮膚欠損部に HGF を投与すると皮膚再生が促進し、biosheet の移植と類似した組織学的変化を伴うことを確認し、biosheet による皮膚再生と HGF の関連性について示した。

本研究結果より biosheet を臓器欠損部に移植すると MSC や HGF、Tenascin-C などが持つ、抗炎症・抗線維化、血管新生、神経修復、細胞の増殖・遊走などの作用により組織再生を促進させているという biosheet の組織再生メカニズムが推察された。HGF 以外の因子との組織再生の関連性や、皮膚以外の組織での再生については更なる検討が必要であるが、本研究は biosheet の組織再生メカニズムに関して新たな知見や実験手法を提示する研究であると言える。

biosheet や biotube を用いた再生医療は、従来の再生医療のような足場作製や細胞培養のための高度な技術や設備を必要とせず、技術的に簡便で普及可能性が高い手法である。本研究により biosheet の組織再生メカニズムの解明が進めば、組織再生に適した biosheet の作成条件を見出すことにより、十分かつ安定した組織再生を誘導することが可能になる。将来的に、血管以外の臓器でも biosheet や biotube による再生医療の臨床応用を実現し、小児外科疾患を含めた様々な領域において新たな治療法を開発することが期待される研究成果と判断した。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。