

Title	Transplanted mesenchymal stem cells are effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds.
Sub Title	間葉系幹細胞移植は皮膚創傷の皮膚の初期再生に効果を認める
Author	佐藤, 博子
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.18-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0018

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Transplanted mesenchymal stem cells are effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds.

(間葉系幹細胞移植は皮膚創傷の皮膚の初期再生に効果を認める)

佐藤 博子

内容の要旨

論文審査の要旨

目的

骨髄より採取される細胞のうち、間葉系への多分化能を有する間葉系幹細胞を生体に移植するとその環境に合わせて分化することが報告されており、この現象は、間葉系幹細胞が皮膚創傷の再生にも影響を及ぼす可能性を示唆している。本研究では、ラットの皮膚創傷に間葉系幹細胞を移植し、皮膚創傷治癒に与える影響を検討した。

材料・方法

成獣F344オスラットの大腿骨より骨髄を採取してプラスチックディッシュに播種し、10-15継代培養して得られた細胞を使用した。脂肪細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞への分化能を検討し、得られた細胞が多分化能を有するか否か確認を行った。間葉系幹細胞はDilで標識したうえ、低濃度群は 4×10^5 個、高濃度群は 4×10^6 個に細胞数を調整し、F344ラットの背部4ヶ所の真皮に局注し、直後に1cmの皮膚全層切開を加えた。7、14日目に肉眼的観察を行い、14日目に創を採取した。14日目の創はホルマリン固定し、パラフィン包埋後、Masson-Trichrome染色を行った。組織はSingerらの方法で点数化した。

結果

骨髄培養細胞の分化をin vitroで誘導した結果、脂肪細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞への分化が認められ、私たちが培養したプラスチック接着細胞は多分化能を有しており、間葉系幹細胞であると考えられた。皮膚全層切開創への間葉系幹細胞移植後7日目の肉眼的観察結果では、コントロール、低濃度群においてわずかに癒痕を認識できるが、より高濃度で移植した群では認識しにくくなっており、14日目の高濃度群の創はさらに認識できなくなっていることが確認された。

14日目の組織像ではコントロールでは創の範囲に一致して膠原線維の乱れと皮膚付属器の欠損を認めた。低濃度群でも膠原線維の乱れが明らかだったが、高濃度群では創の範囲の判別が困難であり、正常組織にほぼ近い状態で治癒していることが確認された。また、創作成14日目の蛍光写真像では低濃度群、高濃度群ともに創の範囲に一致して移植細胞が遊走し分布していることがわかった。

Singerらによる組織像の評価では、最高点が10点で、良好に治癒した創であると判断される。この方法で14日目の創を評価すると、コントロールは平均1.5点、低濃度群は3.25点、高濃度群は4.5点となり、コントロールと細胞移植群との間に有意差を認めた。

考察

以上より間葉系幹細胞は皮膚の癒痕を目立たなく治癒させる能力を有していること、組織学的に膠原線維の配列が正常化すること、移植細胞数は多いほうが有効であることが確認された。骨髄からの細胞採取は容易で、自己の細胞を使用するため免疫上の問題は生じない。また形成外科領域では傷跡が目立たなくなることを希望する患者は多く、臨床応用の利点は大きいと考える。この結果をふまえ、現在臨床応用を検討中である。

皮膚の創痕をScarlessに近い状態にすることは形成外科の重要な研究テーマの一つである。これまで癒痕をできる限り目立たなくする手技や各種サイトカインの応用等が報告されているが、いまだに完全なscarless woundには至っていない。本論文は、ラットの皮膚切開創に多分化能を有するmesenchymal stem cells (MSCs)を移植すると組織学的に膠原線維の配列が正常化し、肉眼的にも癒痕化抑制効果が認められたことを明らかにしている。

審査ではどの段階の細胞を移植に使用したかと質問があり、多分化能のポテンシャルを有していることが確認された細胞で、分化の方向付けがされていない段階の細胞を使用した、と回答がなされた。継代した細胞を使用するほうが良いのかという質問に、継代するとマクロファージなどの炎症性細胞が除去されることが確認されており、線維化抑制に寄与する可能性があることから継代した細胞を使用する方が良いとの回答がなされた。癒痕が目立たないのはMSCsが組織を構成しているためか、もしくはMSCsが放出している因子の影響かとの質問には、MSCsが組織を構成している所見は得られていないこと、MSCsがHGFを強く発現していることが確認されており、TGFβ1を抑制し、癒痕化抑制効果につながっている可能性があること、MSCs移植組織内へのマクロファージ出現の抑制が確認されており、炎症反応が抑えられることで線維化が少ない可能性がある、と回答がなされた。また、Dilによる細胞の染色だけでは詳細が不明であり、GFP Ratの細胞移植を行い、皮膚の構造組織との2重染色を行うべきであるというご教示があった。MSCsを移植する方法につき質問があり、100μlのPBSに細胞を浮遊させて真皮内に局注し、直後に1cm長さの皮膚全層切開創を加え、縫合とドレッシングは行わず開放創のままとしたと回答がなされた。MSCsをin vitroで分化させた場合、分化が誘導される細胞の割合はどれくらいかと質問があり、90%以上の細胞が脂肪・軟骨細胞へ分化し、骨格筋細胞への誘導は数%の細胞に留まると回答がなされた。組織の蛍光写真像は移植細胞が生着している事を示すのかという質問に、生着は不明だがその場に細胞が滞まっていると考えられると回答がなされた。また、今後臨床応用を進めていくにあたり、細胞移植を行うタイミングや方法、ケロイドなどへの効果、年齢による効果の違い、骨髄以外からMSCsを得る方法などを検討するようアドバイスがあった。

以上のように、本研究はMSCsが皮膚創傷治癒の癒痕化を抑制する機序について今後解明しなくてはならない点を残しているものの、手術後の癒痕を目立たなくする方法のひとつであり、この成果を臨床応用することが可能な点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 形成外科学 中島 龍夫

皮膚科学 天谷 雅行 生理学 岡野 栄之

発生・分化生物学 須田 年生

学力確認担当者：北島 政樹、天谷 雅行

審査委員長：天谷 雅行

試問日：平成17年 7月 7日