

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	レマーデレー 由佳理
主 論 文 題 名				
Tunneling nanotube-driven complete regeneration of murine fetal skin (トンネルナノチューブによるマウス胎仔皮膚の完全再生)				
(内 容 の 要 旨)				
哺乳類でも胎生中期までは皮膚創傷後の組織再生能力を持つ。本研究では、皮膚の肌理を含めて完全に再生するマウス胎生13日 (Embryonic day (E) 13) と再生しなくなるE15の創傷治癒過程の各種細胞の三次元的な位置関係と微細構造を観察することで再生のメカニズムに迫ることを目的とした。 E13とE15のマウス胎仔に対して実体顕微鏡下に皮膚全層切開創を作成した。創傷部を上皮が閉鎖するまで経時的に採取し、樹脂包埋を行い、厚さ1μmの組織連続切片を作成した。1サンプルあたり約1000枚の連続切片として採取し、組織染色を施行し、組織像を撮影したのちに医療用画像ソフトを用いて三次元的に再構築を行い、各種細胞間の立体的な位置関係を観察した。その結果E13の創傷部では、皮膚再生過程で表皮角化細胞が、常に真皮線維芽細胞や真皮内のマクロファージに接触した状態で再生が進行することが確認された。一方でE15の創傷部では、表皮角化細胞と深部の筋膜の線維芽細胞が早期に接触することが立体的に確認された。 また、胎仔創傷治癒過程のホールマウント免疫組織染色を施行し、表皮、線維芽細胞、マクロファージの細胞間の微細構造を観察した。そうするとE13においてマクロファージ間とマクロファージ-線維芽細胞の間で、tunneling nanotubes (TNT) が密に形成されていることが新たに観察された。 次にE13の皮膚からマクロファージと線維芽細胞を回収しin vitroで共培養し、走査型電子顕微鏡で観察したところ、培養下でもマクロファージ間とマクロファージ-線維芽細胞の間でTNTが形成されることを確認した。TNTはアクチン重合を阻害するサイトカリンBにより形成が阻害されることが報告されているので、細胞培養の培地にサイトカリンBを混和したところ、TNTの形成が阻害された。 その後、サイトカリンBを胎仔皮膚創傷作成時に羊水内へ投与することで、皮膚再生に及ぼす影響を観察した。サイトカリンBを投与すると、E13の創傷部表皮は閉鎖するものの、TNTの形成が阻害され、肌理は再生されなくなった。E15で投与すると、通常の創傷治癒と比較して再上皮化の遅延を認めた。 以上、三次元的に組織の全体像を観察することでマウス胎仔E13の皮膚再生過程では表皮角化細胞は辺縁部で分裂をきたさず常に辺縁が真皮に接している状態で再生することが分かった。そしてマクロファージのTNTはその真皮や筋膜の層に限定されず、組織層の境界面を超えて結合し、その結果情報のやり取りを行うことで再生へ導く可能性があることが考えられた。対照的に、E15の創傷部では細胞分裂によって創部辺縁の表皮が分裂して早期に肥厚して遊走し、皮膚肉様筋に接着して真皮層が覆われて分断された。したがって真皮における結合組織の再生は境界を超えてTNTでの伝達を介すことができずに真皮内のマクロファージ同士のための情報伝達に依存することになる。これらの構造的な違いが皮膚再生と瘢痕治癒の差になっている可能性があることも示唆された。				