

論文内容の要旨

論文題目 創傷治癒過程における脂肪由来幹細胞の役割
-マウス虚血再灌流障害モデルを用いた実験-

指導教員 光嶋 勲 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成18年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

菅 浩隆

脂肪由来幹細胞 (adipose-derived stem/stromal cells) (以下 ASCs) は、脂肪組織に存在して脂肪細胞の前駆細胞として機能するのみならず、脂肪、骨、軟骨といった間葉系細胞への多分化能を持つ細胞である。近年の研究により、この細胞が血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor) (以下 VEGF) や肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor) (以下 HGF) などの細胞増殖因子を分泌することや、さらには自らが血管内皮細胞に分化することも報告され、血管新生や組織再生を目的とした細胞治療への応用が期待されている。今回の研究では、創傷治癒過程における ASCs の役割に注目した。創傷治癒の過程ではさまざまな細胞増殖因子が産生され、創傷治癒に関与する細胞の活動を制御している。私の所属する研究室は以前、脂肪吸引手術後のドレーン廃液に含まれる細胞増殖因子の濃度を経時的に解析し、塩基性線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor-2) (以下 FGF-2) や血小板由来増殖因子 (platelet-derived growth factor) (以下 PDGF) は術後早期に放出されるのに対して、VEGF や HGF はそれよりやや遅れてその濃度が上昇するという興味深い現象を発見した。このような背景から、脂肪組織に多く存在し、細胞増殖因子を分泌することができ、脂肪細胞や血管内皮細胞に分化する能力もある ASCs は、創傷治癒過程で重要な役割を果たしているはずであり、また、その活動は、創傷部位から放出される細胞

増殖因子の影響を受けているはずであると考えた。

そこでまず、創傷に関連した細胞増殖因子（VEGF, FGF-2, HGF, PDGF）がヒトおよびマウスの ASCs に及ぼす影響や関与するシグナル伝達因子を *in vitro* で検証した。その結果、FGF-2 が濃度依存的に ASCs の増殖を促進することが判明した。また、FGF-2 の刺激が加わると、ASCs 自らの HGF 発現が著明に亢進することも分かった。さらに、細胞増殖因子の作用に関与する重要なシグナル伝達因子である mitogen-activated protein kinases（以下 MAPKs）についての阻害実験を行ったところ、FGF-2 は主に MAPKs の 1 つである c-Jun N-terminal kinase（以下 JNK）経路を介して ASCs の増殖および HGF 発現を促進しているということが示された。

続いて、脂肪組織の虚血再灌流障害モデルをマウスで確立させ、実際の創傷治癒過程における細胞増殖因子の発現変化や ASCs の関与を *in vivo* で検証した。その結果、1 日目には細胞のアポトーシスや壊死とともに FGF-2 が創傷部の細胞外基質等から大量に放出されることが判明した。引き続いて 3 日目から 7 日目にかけて、ASCs の増殖や HGF の発現亢進、脂肪新生を伴う組織のリモデリングが観察され、約 2 週間で治癒は完了した。抗 FGF-2 中和抗体や JNK 阻害剤を投与すると、このリモデリング過程における ASCs の増殖や HGF 発現亢進が阻害され、さらに治癒後の線維化が 2 倍以上増加した。この線維化の増加は、抗 HGF 中和抗体を投与した場合でも同様に認められた。

これらの結果から、ASCs は創傷時に大量に放出される FGF-2 の刺激に呼応し、主に JNK 経路を介して細胞増殖および HGF 分泌を促進することにより、創傷治癒過程における組織リモデリングや線維化抑制において重要な役割を果たしていることが明らかにされた。ASCs の持つ HGF を介した線維化抑制作用はケロイド、肥厚性瘢痕をはじめ、慢性炎症を発端とする多岐にわたる線維化疾患の治療に応用できる可能性がある。そして、その際には、ASCs をあらかじめ FGF-2 で前処置したり、ASCs と同時に FGF-2 も投与したりすることにより HGF を介した治療効果が高まることが期待される。ASCs は骨髄由来間葉系幹細胞と比較して、その採取が容易であり、また、採取できる細胞数も多く、細胞治療の細胞源としては大きなメリットを有している。今後は、その投与方法、安全性などを検討しながら、実際の臨床応用へ向けた進歩がなされることが期待される。