

審査の結果の要旨

氏名 黄 麗娟

本研究は、高血糖下における上皮化促進技術の開発を目的に、高血糖下における上皮化遅延と基底膜の構造的異常との関連を解明し、Acylhomoserine Lactone (AHL) による基底膜構造の改善効果、および上皮化促進効果を明らかにした研究である。この目的を達成するために、高血糖モデルラットおよびケラチノサイト培養細胞株を用いて実験を行い、下記の所見を得ている。

1. 高血糖モデルラットにおける上皮化遅延

本研究は、上皮化に対する高血糖自体がおよぼす直接的影響を解明するため、ストレプトゾトシンを腹腔内投与後 2~4 週間の SD ラットを、高血糖モデル動物として使用した。高血糖モデルラットおよび対照ラットの背部に全層欠損創を作製し治癒過程を解析した結果、高血糖ラットでは創作製後 7 日目から創面積が有意に大きく、創閉鎖日数が有意に長くなっていた。また創作製後 7 日目の組織における新生上皮長を比較したところ、高血糖群において有意に短く、上皮化の遅延が証明された。

2. 高血糖下における上皮化遅延のメカニズム：基底膜の構造的異常

創部組織の詳細な観察により、高血糖下では新生上皮組織が肥厚し、一部が肉芽へ陥入していることが明らかとなった。そこで、免疫組織化学により基底膜構成因子 (laminin、fibronectin、type 4 collagen) を染色したところ、基底膜の断裂および形成不全が頻繁に観察された。表皮ケラチノサイトの増殖能は基底膜との接着により厳密に制御されていることから、増殖マーカー Ki67 を免疫組織化学により染色したところ、陥入部における局所的過剰増殖と、それ以外の平坦部における増殖抑制が示された。従って、この増殖抑制が上皮化の進行を遅延させており、一方で局所的過剰増殖により創縁の肥厚をもたらしているものと考えられる。更に、RT-PCR による遺伝子発現解析の結果、基底膜構成因子である laminin5 の発現低下、および分解酵素である Mmp-2、Mmp-9 と Mmp-11 の発現促進が認められた。以上より、高血糖下における laminin5 の発現抑制、および分解酵素の増加が上皮化遅延のメカニズムであり、上皮化促進を目的とした介入の有効なターゲットであることが示唆された。

3. AHL の上皮化促進効果の検討

まず、*in vitro* で、ケラチノサイトの基底膜関連遺伝子の発現に及ぼす AHL の影響を RT-PCR で解析した結果、laminin5 の有意な発現促進効果が認められた。次に、AHL 投与による上皮化促進効果を高血糖モデルラットで検討した結果、AHL 投与群では創作製後 8 日目以降創面積が有意に縮小しており、創閉鎖に要した日数は有意に短くなったことから、高血糖下における AHL の上皮化促進効果が示された。組織学的および免疫組織化学的解析では、基底膜の正常化が認められ、また表皮基底層における増殖細胞の均一な分布、更に新生上皮組織の肥厚や陥入等の形態的異常の改善が観察された。以上の結果は、高血糖下における上皮化遅延は laminin5 の発現低下に伴う基底膜の形成不全・分解を起点としてもたらされること、AHL の局所投与が基底膜の改善により上皮化促進効果を有することを証明している。

本研究は、未だ決定的対応策のない糖尿病における上皮化の遅延・異常について、その本質的メカニズムから新たな介入技術の開発を試みた意義深い研究である。

以上より、本研究は学位授与に値する研究であると考えられる。