



Title	ブタ食道内視鏡的粘膜下層剥離術後の狭窄モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清投与による狭窄予防効果 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	水島, 健
Description	配架番号 : 2321
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12580号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65939
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takeshi_Mizushima_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 水島 健

	主査	教授	岩永 敏彦
審査担当者	副査	教授	坂本 直哉
	副査	教授	武富 紹信
	副査	教授	平野 聡

学 位 論 文 題 名

ブタ食道内視鏡的粘膜下層剥離術後の狭窄モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞の
培養上清投与による狭窄予防効果

(Oral administration of conditioned medium obtained from mesenchymal stem cell
culture prevents subsequent stricture formation after esophageal submucosal
dissection in pigs)

本研究で申請者は、ブタを用いた食道内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD ; Endoscopic submucosal dissection) の術後狭窄モデルに対してヒト羊膜由来間葉系幹細胞から作成した培養上清 (MSC-CM ; conditioned medium obtained from mesenchymal stem cell) 投与による狭窄予防の効果を検討した。

全身麻酔下で 20 kg のブタの下部食道に長軸 5 cm かつ亜全周性の ESD を行い狭窄モデルを作成し、MSC-CM をカルボキシメチルセルロースを用いてゲル状にして投与を行なった。申請者は 2 つの実験を設定した。実験 1 は、MSC-CM ゲルによる ESD 後狭窄予防効果の実験であり、ゲルを週に 1 回、3 週投与する weekly-CM 群 (CM-W)、ESD 後より 4 日間経口投与を行なう daily-CM 群 (CM-D)、実地臨床で狭窄予防に使用されているステロイド局注群およびコントロール群の 4 群で検討した。実験 2 は、潰瘍治癒急性期の評価を目的とし、ESD 後よりゲルを 1 週間連日経口投与する CM 群、ステロイド局注群およびコントロール群の 3 群で検討を行なった。評価項目としては、食道粘膜狭窄率と病理学的評価を行なった。病理学的評価項目としては、線維化の浸潤距離、食道内輪筋の萎縮率、また 免疫染色を行い、筋線維芽細胞、血管密度、マクロファージ、好中球、Ki67/p63 陽性細胞の数をカウントした。実験 1 の結果としては、狭窄率は CM-W、CM-D 群およびステロイド群でコントロール群と比べ有意に狭窄を予防した。病理学的検討では、筋線維芽細胞の数と線維化の浸潤距離にお

いて CM-W、CM-D 群およびステロイド群がコントロール群と比べ有意に抑制されていた。実験 2 の急性期評価では、マクロファージと好中球の浸潤が CM 群およびステロイド群でコントロール群と比べ有意に減少した。以上の結果より、食道 ESD 後狭窄は、マクロファージ、好中球によって活性化される筋線維芽細胞により線維化が促進されるために生じると考えられた。MSC-CM ゲルはマクロファージや好中球の浸潤を抑制し、それに引き続く筋線維芽細胞の活性化を抑制することで線維化を抑制し、狭窄を予防すると考察を行い、また、ステロイドと同等の狭窄予防効果であることも示した。

審査にあたり、まず副査の武富教授より、創傷治癒過程における細胞動態の基礎実験の有無、CM 中の有効成分と、その成分の個体差に関して質問があり、申請者は動態実験は今後予定していく旨を説明し、有効成分に関しては、既報では Prostaglandin E2 が多く含まれているが、品質管理に関しては現在、検討中であると回答した。副査の平野教授からは、狭窄に最も寄与している原因、臨床での食道 ESD 後狭窄の出現頻度に関しての個体差の有無、ゲル投与スケジュールに連日投与群を設定した根拠、ゲル自体が予防効果を発揮している可能性に関して質問があり、申請者は狭窄の本態は線維化であり、狭窄出現の個体差に関しては、同じ局在かつ周在性であれば、ほぼ同じ頻度で狭窄を来すので、個体差は無いと説明した。本実験でもコントロール群では狭窄率のばらつきが小さく、個体差が無い根拠として回答した。また、治療後 4 日までが炎症が強い時期と報告されており、その時期の炎症を抑制することが重要であると考えたために連日投与群を設定した旨を回答した。副査の坂本教授からは、本実験でモデルとしてブタを選択した理由に関して問われ、申請者は ESD を行なうためには大動物が必須であり、また、ブタとヒトの創傷治癒が類似しているためと回答した。主査の岩永教授からは、CM 中の有効成分に関しての vitro 実験の有無、投与したゲルの停滞時間と食事の影響、また、流されたゲルが消化管で吸収され血行性に効果発現している可能性に関して質問があった。申請者は vitro 実験に関しては、実験計画中であると回答し、ゲルの停滞時間は確認実験を行っていないが、内視鏡で散布した直後からしばらく観察している範囲では、大部分は流れて行くが、潰瘍面の表面にわずかにゲルのコーティングが作られており、数十分から 1 時間程度は停滞している可能性を説明した。血行性の効果発現に対しては、予備実験で液体の CM を投与した場合には狭窄を来しており、吸収されたものが効いているのではなく、局所での効果発現と考察していると回答した。

本研究の基礎論文は既に Gastrointestinal Endoscopy 誌に受理され、また、国際学会において高く評価され、今後の食道 ESD 後狭窄予防の新規治療法開発につながることを期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。