HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	羊膜由来間葉系幹細胞による移植脂肪生着向上効果の検証［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	伊藤, 梨里
Description	配架番号：2595
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14479号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81907
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Riri_Ito_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　伊藤　梨里

	主査	准教授	外丸　詩野
審査担当者	副査	教授	清野　研一郎
	副査	准教授	山田　雅文

学 位 論 文 題 名

羊膜由来間葉系幹細胞による移植脂肪生着向上効果の検証
(Studies on the effect of amnion-derived mesenchymal stem cells to promote the survival of fat grafts)

申請者は以下の内容について発表した。
脂肪移植における生着率の向上のために、マウス脂肪移植モデルにおいて羊膜由来間葉系幹細胞を添加し、その効果について検討を行った。
質疑応答については以下の通りであった。
副査の清野教授から移植脂肪の生着のメカニズムについて質問があり、脂肪は細分化されて移植され、術後 2 日程度で周囲組織からの血管新生により血行が再開し生着が得られると返答した。移植脂肪の免疫学的染色において、血管新生の評価として行った CD31 抗体の交差性について質問があり、申請者は、ヒト、マウス両者に交差性を持つ抗体を使用したことを説明した。また移植脂肪の保存方法について質問があり、申請者は手術時に余剰脂肪として採取した移植脂肪は臨床での使用と同様に清潔操作による遠心分離で精製を行なった後、冷所保管し、速やかにマウスモデルへの移植を行なっていることを返答した。また、本研究は免疫不全マウスを使用した異種移植モデルであるが、免疫不全でないマウスに同様の脂肪および羊膜由来幹細胞の移植をおこなった場合、どのような免疫反応が起きるかとの質問があり、申請者は、予備実験として免疫不全マウスでない C57BL/6 マウスでの脂肪移植モデルでの検討を行なったが、注入後 2 週の時点で移植脂肪塊の内部に壊死が生じ、それ以上の検討を行っていないことを返答した。それをふまえて清野教授より、同モデルでマウス炎症細胞の浸潤について病理組織学的に検討することで、免疫反応についてより詳細な検討が可能だろうと助言をいただいた。また、申請者は、実際の臨床であれば自家脂肪移植に他家同種として羊膜由来間葉系幹細胞を添加することから、それに対応した免疫不全でない同種移植モデルでの検討が妥当と考えられることを返答した。
副査の山田准教授より、脂肪由来間葉系幹細胞や Stromal vascular fraction などと比較した羊膜由来間葉系幹細胞の移植脂肪生着向上効果の程度について質問があり、申請者は本研究の脂肪生着率の向上効果は既報の脂肪由来幹細胞や Stromal vascular fraction と同程度であり、採取の非侵襲性、大量採取の容易性などを考慮すると、羊膜由来幹細胞の脂肪移植への応用は十分に意義があると返答した。また羊膜由来幹細胞とその他の幹細胞との直接的な比較検討が行えていない点は本研究の限界として認識していることを返答した。またスライドに提示した STEM121 免

疫染色の所見がやや不鮮明であったことの指摘があり、申請者は全体像の提示のために弱拡大の写真を選択したが、そのために染色所見がわかりにくかったことを謝罪した。また、脂肪移植モデルとして、なぜ免疫不全マウスを選択したのかとの質問があり、免疫不全マウスを用いた異種移植モデルはより臨床に近い脂肪採取、処理が可能であること、間葉系幹細胞による移植脂肪生着向上効果の機序として既報では血管増生によるものが多く報告されており、本研究でも同様の機序であると推測し、免疫不全マウスで十分に検討可能と判断したが、実際は、強い線維化抑制効果が示され、炎症についても評価が望ましい結果であったことから、モデルの変更を考慮すべきであったと返答した。

最後に主査の外丸准教授より、脂肪検体の採取対象者の体型、肥満度によって脂肪細胞の性状、生着率が異なる可能性について質問があり、申請者は、その点について検討はできていないが、乳房再建時に余剰となった脂肪検体を使用していることから、本研究では比較的やせ型の女性患者が対象となったことを返答した。また、脂肪組織内の線維芽細胞の由来について質問があり、申請者は、STEM121 免疫染色により、脂肪内に浸潤する細胞の由来を検討し、ヒト由来とマウス由来の両者が混在していることは示されたが、線維芽細胞を含む細胞腫ごとに関しては検討していないこと、マウス由来の線維芽細胞が周囲組織から移植脂肪内に浸潤する可能性、ヒト脂肪組織に混入してヒト由来の線維芽細胞が移植される可能性の両者が考えられることを返答した。また、移植脂肪内の線維化がどのような機序で生じるのかとの質問があり、申請者はなんらかの炎症の結果として、脂肪内の線維化が生じていることが推測されることから、やはり炎症について免疫不全でないモデルにより検討することが望ましかったことを返答した。

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単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。