HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 羊膜由来間葉系幹細胞による黄色ブドウ球菌感染糖尿病性潰瘍の治療法の開発［論文内容及び審査の要旨］ |
| Author(s) | 石井, 陸 |
| Description | 配架番号：2887 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(医学) |
| Dissertation Number | 甲第16395号 |
| Issue Date | 2025-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/95384 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | ISHII_Riku_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　石井　陸

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　橋本　大吾

## 学 位 論 文 題 名

羊膜由来間葉系幹細胞による黄色ブドウ球菌感染糖尿病性潰瘍の治療法の開発
(Development of a treatment for diabetic ulcers infected with *Staphylococcus aureus* using amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells)

近年、世界的に糖尿病患者が増加しており、その重篤な合併症である糖尿病性足潰瘍の患者数も増加傾向にある。糖尿病性足潰瘍は治療期間が長期にわたるだけでなく、下肢切断や死亡といった深刻な転帰をたどることが多い難治性疾患である。羊膜由来間葉系幹細胞（AMSC）は創傷治癒促進などのさまざまな効果を示すが、他のソース由来の間葉系幹細胞（MSC）と同様に細菌増殖抑制作用を有するかは明らかではなかった。本学位論文は、申請者がAMSCの細菌増殖抑制作用を評価した研究を報告したものである。第一章では、AMSCが抗菌ペプチドLL-37を分泌し、その分泌量が低酸素培養によって増加することを明らかにした。第二章では、AMSC培養上清が黄色ブドウ球菌の増殖を抑制し、その作用が低酸素培養によって増強されることを示した。第三章では、糖尿病マウスモデルにおいて、低酸素培養AMSC培養上清が黄色ブドウ球菌感染創の細菌数を減少させ、創傷治癒を促進することを確認した。

審査会において、橋本准教授からは、細菌増殖抑制作用の主要因がLL-37であるかどうか、またLL-37ノックダウンAMSCを用いた検討の必要性について指摘があった。これに対し申請者は、抗LL-37抗体を投与することで細菌増殖抑制作用が阻害されるかを評価することで、研究内容をより充実させることができると回答した。また、グラム染色による細菌量の定量化の正確性について、FISH（蛍光 in situ ハイブリダイゼーション）を用いる選択肢もあるのではないかとの質問があり、申請者は、複数枚のスライドの平均値を算出することで正確性を担保していること、またFISHも有用であるが、簡便性の観点からグラム染色を採用したと回答した。さらに、LL-37による創傷治癒の機序を詳細に検討すると良いのではないかとの指摘に対し、今後の研究課題とする旨を回答した。最後に、学位論文の誤字について指摘があり、申請者は修正を約束した。

次に副査の清野教授からは、LL-37の細菌増殖抑制作用と創傷治癒促進作用のどちらが主な要因となったのかとの質問があった。申請者は、創部の感染コントロールが得られなければ創傷は治癒しないため、細菌増殖抑制作用が主であると回答した。また、MSC全般がLL-37を分泌する目的についての見解を問われ、羊膜由来MSCは胎児や子宮内感染を、骨髄由来MSCは骨髄炎などの局所感染を防ぐためであると考えられると回答した。さらに、間葉系幹細胞を創傷治療に臨床応用する際の技術的ハードルについて、すでに臨床応用された事例があるかとの質問に対し、創傷治療目的で国内承認されたものは現時点ではないと回答した。

最後に主査の外丸准教授からは、中間審査でも指摘されたが、他の病態への応用可能性も考慮し、WTマウスを用いた実験も行うべきではなかったかとの質問があった。これに対し、申請者は、

基礎疾患のない患者では感染が遷延することが少なく、実臨床で治療に難渋する糖尿病性足潰瘍を念頭においたため、WT マウスは用いなかったと回答した。また、時間的制約もあり、実施に至らなかったと説明した。さらに、LL-37 そのものを投与する実験をなぜ行わなかったのかとの質問があり、申請者は、LL-37 そのものを投与し細菌増殖が抑制されるかを評価する実験や、抗 LL-37 抗体を培養上清に添加することで細菌増殖抑制作用が減弱するかを検討する実験は、研究の厚みを増すものであるが、時間的制約により実施できなかったため、今後の研究課題とする旨を回答した。

申請者はすべての質問に適切に回答し、研究の立案、統計解析、結果の解釈、および今後の社会実装と貢献について十分な理解と考察を有していると判断された。

本論文は、AMSC が細菌増殖抑制作用を有し、さらに低酸素培養によってその作用が増強されることを初めて明らかにした点で新規性を有する。これにより、糖尿病性足潰瘍に対する新規治療法の開発が期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽および取得単位を総合的に考慮した結果、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。