



Title	マウス熱傷モデルにおける羊膜由来間葉系幹細胞由来物質のBurn wound conversion抑制効果に関する研究
Author(s)	松田, 識郁
Description	配架番号 : 3002
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16909号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16909
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99754
Type	doctoral thesis
File Information	MATSUDA_Norifumi_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 松 田 識 郁

学 位 論 文 題 名

マウス熱傷モデルにおける羊膜由来間葉系幹細胞由来物質の

Burn wound conversion 抑制効果に関する研究

(Studies on the inhibitory effects of amnion-derived mesenchymal stem cell secretome on burn wound conversion in a mouse burn model)

【背景と目的】 広範囲熱傷は依然として致死率が高く、その生命予後を規定する最大の因子は熱傷面積である。熱傷創は中心部の壊死領域（Zone of coagulation）、自然回復が期待される充血領域（Zone of hyperemia）、そして可逆性を有する不安定なうっ血領域（Zone of stasis）の三層に分類される。Zone of stasis では、受傷早期には軽症で生存すると思われた箇所も、時間の経過とともに壊死へ移行することがある。この現象は「Burn wound conversion」と呼ばれる。Burn wound conversion を抑制することは熱傷面積拡大の防止および予後改善に直結する。近年、羊膜由来間葉系幹細胞（Amnion-derived mesenchymal stem cell; AMSC）が注目されている。AMSC は胎児を包む羊膜から得られる間葉系幹細胞で、分化・増殖能に優れ、パラクライン作用を介して血管新生や免疫調節、抗炎症、抗線維化作用を示す。さらに採取の安全性、豊富な細胞数、高い免疫寛容性などの特徴から新しい間葉系幹細胞のソースとして期待されている。ラットを用いた熱傷モデルにおいて、間葉系幹細胞投与が Burn wound conversion を抑制する可能性が報告されているが、その病態生理は十分に解明されていない。ラットと比べて、マウスはコスト面や試薬の多さ、遺伝子改変技術の豊富さから、より多面的な病態解明に寄与すると考えられる。本研究の目的は、Burn wound conversion の病態生理を解明するために、マウスを用いた新規熱傷モデルを作製し、AMSC 由来物質が Burn wound conversion に及ぼす影響を検討することである。

【材料と方法】 第一章では、沸騰水で加熱した真鍮製テンプレートを用い、マウス側腹部に 5 秒、15 秒、25 秒間接触させて熱傷創を作成した。テンプレートは 2 つの凸面部（Zone of coagulation を形成）と中央の間隙（Zone of stasis を形成）を有した。熱傷創作成 96 時間後に創部を撮影した画像を画像解析ソフトウェア ImageJ で解析し、生存面積割合（創全体における間隙部の生存組織面積比率）を算出し、間隙部の 50 % から 75 % 壊死（生存面積割合で 7 % から 14 %）の状態を Burn wound conversion を模したマウス熱傷モデルと定義した。さらに、熱傷創作成 1 時間、12 時間、24 時間、48 時間、96 時間後に間隙部から組織を採取し、組織学的評価を行った。第二章では、作製したマウス熱傷モデルに対し、AMSC 由来物質投与群（CM5-ip 群）、培地投与群（Sham-ip 群）、無介入群（Control 群）を設定し、熱傷創作成 96 時間後に生存面積割合を評価した。加えて、熱傷創作成 48 時間後にマロンジアルデヒド（Malondialdehyde; MDA）アッセイを行い、酸化ストレスの指標を測定した。また、間隙部からリボ核酸（Ribonucleic acid; RNA）を抽出し、炎症関連因子や成長因子の遺伝子発現をリアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応で解析した。統計解析は Student の t 検定および一元配置分散分析を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

【結果】 第一章において、テンプレートの凸面接触部（Zone of coagulation）は III 度熱傷を呈し、間隙部では時間経過とともに壊死が進行した。熱傷創作成 96 時間後の生存面積割合は 5 秒群で 20.1 %、15 秒群で 9.6 %、25 秒群で 3.7 % であり、全群間で有意差を認めた。5 秒群では壊死が乏しく、25 秒群

では壊死が間隙部（Zone of stasis）のほぼ全域であったのに対し、15秒群では壊死と救済された領域が混在し、Burn wound conversion を再現する最適条件であった。組織学的評価では、Burn wound conversion が生じた組織では、受傷早期から皮膚付属器および皮下筋層に変性が生じていることが示された。第二章では、熱傷創作成 96 時間後の生存面積割合は CM5-ip 群で 17.5 %、Sham-ip 群で 8.5 %、Control 群で 9.9 %であり、CM5-ip 群で有意に高値であった。MDA アッセイでは CM5-ip 群の MDA 濃度が Control 群に比べ低値を示し、軽度の抗酸化作用が示唆された。遺伝子発現解析では、炎症関連因子や成長因子の発現は Sham-ip 群および CM5-ip 群で低下していたが、特に CM5-ip 群では Interleukin-6（*Il6*）の発現が比較的高値を示すなど、AMSC 由来物質の影響が一部で示唆された。ただし、検体全体で RNA 抽出率が低値であり、解析には限界があった。

【考察】 本研究で確立したマウス熱傷モデルは、Burn wound conversion を安定して再現できた。組織学的解析により、Burn wound conversion が生じた組織では、受傷早期から皮膚付属器や皮下組織に変性が生じることが明らかとなり、Burn wound conversion の病態解明や早期診断に有用な知見が得られた。さらに、AMSC 由来物質投与は Zone of stasis における組織壊死の進行を抑制し、軽度の抗酸化作用を示す可能性があることが確認された。一方で、遺伝子発現解析は技術的制約により十分なデータを得られず、今後は RNA 抽出率を改善した実験系の検討が必要である。

【結論】 マウスにおいて、沸騰水で加熱したテンプレートで 15 秒間接触させることで Burn wound conversion を模倣可能な新規熱傷モデルを作製できた。本モデルは Burn wound conversion の病態解明に有用であると考えられる。また、AMSC 由来物質は Burn wound conversion を抑制する効果を有する可能性が示唆され、熱傷治療への応用の可能性が示された。