



HOKKAIDO UNIVERSITY

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_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 松田 識郁

主査 教授 清野 研一郎
審査担当者 副査 准教授 外丸 詩野
副査 准教授 夏賀 健

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)

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。第一章では、加熱した真鍮製テンプレートをマウスの側腹部に接触させ、15 秒間の接触時間において Burn wound conversion を安定して再現できるモデルを確立した。また、組織学的評価により、Burn wound conversion が発生した部位では受傷後早期から皮膚付属器や皮下筋層に変性が生じることが判明した。第二章では、作製したモデルに羊膜由来間葉系幹細胞由来物質を投与した結果、無介入群と比較して生存面積割合が向上し、Burn wound conversion の抑制効果が示された。また、酸化ストレスの指標であるマロンジアルデヒドの低下も認められた。本研究により、Burn wound conversion の病態解明に有用なマウスモデルが確立され、羊膜由来間葉系幹細胞由来物質

が熱傷面積の拡大を阻止する新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

審査にあたり、まず副査の外丸准教授から、研究1の組織学的評価における切片の切り出し方向について質問があり、申請者はZone of stasisの短軸方向ではなく長軸方向で切り出しを行うことにより、Burn wound conversionに伴う生存部から壊死部への移行過程をグラデーションとして連続的に把握できる利点があるため、本手法を採用したと回答した。また、エダラボンなどの既承認薬の投与検討について質問があり、申請者は糖尿病治療薬として知られているメトホルミンの炎症抑制効果に着目しており、本研究で得られた知見を基にした比較検討を今後の課題として位置づけていると回答した。さらに、研究2の評価時点を48時間後と96時間後に設定した理由について質問があり、96時間後は研究1で確立した生存面積割合の評価に適した時点であること、48時間後は既報に準じて酸化ストレスを評価するためであると回答した。

副査の夏賀准教授からは、2つの創を対向させる本モデルの妥当性について質問があり、申請者は単一の熱傷創ではZone of coagulationとZone of stasisの境界が不明瞭となるが、本モデルのように非接触領域を介在させることで、評価対象とするZone of stasisを特定領域に限定して作成でき、Zone of stasisに限局した解析が可能となる利点をもつためと回答した。また、組織学的評価において、Hematoxylin-Eosin染色以外の特殊染色や免疫組織化学染色などを検討したかという質問があり、申請者は予備実験でMasson-Trichrome染色を試行したものの、Hematoxylin-Eosin染色の結果と整合性が得られなかったため、本研究の評価指標としては採用を見送ったと回答した。続いて、研究1のテンプレートにつばを設けた理由について質問があり、申請者は接触領域の境界を明確にすることで、創収縮が生じた後も領域判定の指標とするためであると回答した。また、生存面積割合の評価時点を4日目に設定した理由について質問があり、申請者は予備実験の知見から、Burn wound conversionによる壊死拡大が完了し、かつ創収縮による形態変化が強まる前の、評価に最も適した時期であるためと回答した。

最後に、主査の清野教授から羊膜由来間葉系幹細胞培養上清中の有効成分の特定、およびマウスの実験動物としての利点として挙げた遺伝子改変モデルを用いた検証の有無について質問があり、申請者はいずれも病態解明を深める上で重要かつ次の段階の課題であるが、現時点では研究予算などの制約により未検討であると回答した。また、ヒトにおけるBurn wound conversion抑制治療法の現状についての質問があり、申請者は国内で承認された製品は未だ存在しないものの、治験段階ではブタの皮膚や人工真皮などを足場として間葉系幹細胞を組み込む再生医療的アプローチの研究が進んでいる現状について回答した。

この論文は、Zone of stasisに限局した評価が可能であるマウスを用いた新しい熱傷モデルを作製した点において高く評価され、今後のBurn wound conversionの病態生理解明のために、貢献されることが期待される。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。