

主論文要旨

論文提出者氏名：鍋島 諒大

専攻分野：形成外科学

指導教授：梶川 明義

主論文の題目：
色素細胞含有培養表皮の移植経過の研究

共著者：
梶川 明義、住江 玲奈、友近 真世、武内 嵩幸、
久保田 学、井上 肇

緒言

培養表皮移植は尋常性白斑の治療として有用であるが、従来の技術では表皮細胞培養時に混入している色素細胞を維持しているのみであり、移植した培養表皮と周囲皮膚とのカラーマッチが不良となることがある。そこで我々はこれまで色素細胞と表皮細胞をそれぞれ培養したのちに、それらを共培養し色素調整培養表皮とする培養表皮作製技術を確立し、報告してきた。今回マウスを用いて、色素調整培養表皮の生着性と色素細胞の遺残性、色調について検討した。

方法・対象

ヒトの術後余剰皮膚から表皮細胞、色素細胞をそれぞれ培養した。

表皮細胞と色素細胞を混合し播種する際に、播種色素細胞密度を播種表皮細胞密度に対して 0.01 倍、0.1 倍、1 倍で調整した培養表皮を作製した。色素細胞密度が維持された培養表皮が作製されているか検討するために、Dopa 染色を施行した培養細胞から溶出したドーパクロムの OD475nm の吸光度を測定した。

作製した培養表皮をアルビノの免疫不全マウスの背部皮下に移植し、移植後 2 週間の組織標本を作製した。HE 染色、ギムザ染色、抗 Melan-A 抗体による免疫染色を行い、生着および、メラニン色素、色素細胞の有無について検討を行った。また Melan-A 染色の標本で 100 倍の視野 4 か所の色素細胞数を計測し、ボンフェローニの多重比較検定による検討を行った。移植後 3 か月の組織標本も作製し、同様に染色を行った。色素細胞のメラニン産生能を確認するため、Dopa 染色を行った。

ヒトの皮膚採取については聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会（承認番号第 1548 号）の承認の下に行った。動物実験については聖マリアンナ医科大学動物実験委員会（承認番号 2002013, 2102018）の承認の下に行った。

結果

作製された培養表皮は色素細胞密度に応じて色調が濃くなっていた。OD475nm の吸光度は色素細胞密度に応じて増加した。

2 週間後に採取された組織は色素細胞密度に応じて着色する傾向にあった。組織標本において、HE 染色で生着が確認された。また Melan-A 染色で色素細胞が培養表皮および、マウス毛包内に確認された。アルビノの色素細胞との鑑別のため、ギムザ染色を行い、培養表皮中のみにメラニン色素を認めた。培養表皮中において計測された色素細胞数は播種色素細胞数に応じて多い傾向がみられ、表皮細胞単独群と比較して播種色素細胞密度 1 倍群において有意に多かった ($p < 0.001$)。

移植 3 か月後の組織標本において、培養表皮および色素細胞の生着が確認された。培養表皮中に Dopa 染色が陽性となる細胞を認めた。

考察

移植 2 週間後に、全ての色素細胞密度の培養表皮が生着し、色素調整培養表皮が生体に生着することが確認された。また色素細胞密度に応じて、色素細胞数も多く生着しており、色調も濃くなっていることから培養表皮作製時の色素細胞密度を調整することで、移植表皮の色調をコントロールできることがわかった。移植 3 か月後においても培養表皮および色素細胞が生着しており、長期的にも残存することが確認された。また Dopa 染色が移植培養表皮内で陽性であったことから、3 か月経過時点でメラニン産生能が維持されていると考えられた。

結論

色素細胞調整培養表皮は、問題なく生着し、播種色素細胞密度に応じて色素細胞も多く、色調も濃くなることが分かった。また 3 か月経過時点でもメラニン産生能が保たれることが分かった。今後尋常性白斑などの治療に応用できると考えられる。