

**論 文 審 査 の 要 旨**

筆頭著者（学位申請者）氏名

武内 嵩幸

主論文の題目  
および  
掲載・審査委員

題 目 培養表皮の色素調節技術の開発 整容的応用のための基礎的検討

掲載誌 聖マリアンナ医科大学雑誌 2019 ; 47 : 105-114

主査 松井 宏晃  
副査 門野 岳史  
副査 太田 有紀

[論文の要旨・価値]

[緒言] 白斑の治療に自家培養表皮移植は良い適応であるが、従来の培養方法では、表皮細胞と色素細胞の増殖が同調せず、継代中に色素細胞数減少と培養表皮細胞の色調低下が起こる。従って、整容性の観点から採皮部位が制限され、移植予定面積を考慮して大きめの採皮が必要となることがある。これらの問題点を解決するため、培養表皮の色調調節技術の開発について基礎的研究を行った。

[方法] 本研究は、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認(承認番号 第 1548 号)を得て実施した。ヒト正常色素細胞培養液に色素合成促進薬 endothelin-1(ET-1) (50, 100 nM)、prostaglandin F2α(PGF2α) (1, 30 μg/ml)を添加し、DOPA 染色による細胞着色変化および tyrosinase (TYR)活性を測定し、色素細胞特有の遺伝子発現を real-time PCR で解析した。ヒト正常皮膚を酵素処理し得た細胞浮遊液を用い、色素細胞の単離培養法、すなわち 2 試薬 (dispase (300 U/ml), geneticin (100 μg/ml))を用い表皮細胞と線維芽細胞を除去する方法、および F12 改変培地 (FBS, 20%; FGF-2, 20 ng/ml; isobutylmethylxanthine, 20 μg/ml; cholera toxin, 10 ng/ml 含有)を用いる方法を検討した。最後に、表皮細胞と色素細胞を共培養し、色調調整した培養表皮シート作製を試みた。

[結果] ヒト正常色素細胞培養液に ET-1、PGF2αを添加すると、細胞レベルで着色が亢進した。ET-1は TYR 遺伝子発現を増加させたが、PGF2αは抑制した。培養表皮シートにET-1と PGF2αを添加すると、TYR 活性は増加したが、色素細胞数は増加しなかった。次に、色素細胞の単離培養を試みた。2 試薬を用いる方法では、geneticin の色素細胞毒性のため長期培養ができなかった。F12 改変培地を用いると、表皮細胞が分化して継代時に脱落し、線維芽細胞増殖が極めて遅いため、選択的色素細胞培養が可能となった。これらの結果に基づき、培養表皮細胞継代時に、任意の細胞数に調製した色素細胞を混和・播種することで共培養が可能となり、色調調整した培養表皮シートを作製できた。

[考察] 色調調節可能な培養表皮シートの実現は、採皮部位の制限をなくし、採皮面積を小さくし、より調色性に優れた治療を提供できる可能性がある。

本論文は、色素細胞の選択的培養法並びに、色素細胞数を調製したうえで表皮細胞と共培養する技術を確立し、色調調節が自在にできる培養表皮シート作製の可能性を示唆しており、形成外科学分野における高い学術的価値を有する。

[審査概要]

陪席者は2名であった。申請者が PC を用い、20 分間、本研究の背景、方法、結果、考察、関連領域などについて、明快に発表した。続いて、45 分間の質疑応答では、PGF2αと ET-1 濃度の設定根拠、PGF2αの作用機序、色素細胞特異的培地の組成・特徴、ハイドロキノンの作用を調べた理由、F12 改変培地で表皮細胞が分化した理由、色素細胞と表皮細胞の共培養を開始する時期、両細胞を混和する際の比率、 本研究成果に基づく今後の臨床応用の可能性など、多岐にわたる質問に、申請者は的確に回答した。

**最 終 試 験 結 果 の 要 旨**

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価]

申請者は、臨床現場で遭遇した問題点を解決するため、本研究の目標を明確化し、計画性を持って本研究を進め、当初の目的を達成したことから、自立して研究を遂行できる能力を備えている。英文文献の一部の和訳により十分な英文読解力があると判断した。以上、論文内容とそれに関連した試問を行った結果、態度、人柄にも優れ、専門分野および関連領域における学識、研究意欲、研究遂行能力などを総合して、申請者は学位授与に値すると評価した。