

## 論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

林 京子

主論文の題目  
および  
掲載誌・審査委員名

題目 ヒト培養表皮細胞においてヒルジンが血管作動性物質産生に及ぼす影響

掲載誌 日本形成外科学会会誌 2018 ; 38 : 583-592.

主査 津川 浩一郎

副査 熊井 俊夫

副査 大塩 恒太郎

[論文の要旨・価値] 微小血管吻合では血栓形成により皮弁の微小循環障害が生じ、壊死に陥るリスクがある。その対策として医療用ヒルによる吸引・鬱血解除の有用性が知られている。ヒルの唾液中に分泌されるヒルジンは抗凝固作用を有することが知られているが、周囲組織に対する影響についてはあまり検討されていない。今回、皮弁の構成要素の一つである表皮細胞が産生する血管作動性物質の遺伝子発現を分析し、ヒルジンが表皮細胞の血管作動性物質産生に及ぼす影響を検討した。[方法・対象] 培養したヒト未分化表皮細胞および分化表皮細胞において、無添加、ヒルジン・トロンビン単独添加、共存添加で8群を作成し、定量的PCRを用いて遺伝子発現を測定した。培地上清中の生合成産物をEnzyme Immune Assay法を用いて測定し、解析した。本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認（第1548号）を受けた。[結果] 未分化および分化培養表皮細胞は、ともにエイコサノイド合成酵素関連遺伝子、エンドセリン-1 (EDN1) 遺伝子を発現した。トロンボキサン A2 合成酵素 (TBXAS1) と EDN1 遺伝子発現は培養した表皮細胞の分化が進んだものほど遺伝子発現が増強した。これら遺伝子の発現はトロンビンの存在で増強され、ヒルジンで抑制された。トロンボキサン B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) と エンドセリン-1 (ET-1) 産生は分化誘導で各々20倍、5倍以上増加した。トロンビンはTXB<sub>2</sub> 産生を有意に増強し (p=0.0065)、ET-1 産生を増強する傾向にあった (p=0.1168)。ヒルジンは、トロンビン刺激下の、TXB<sub>2</sub> 産生を減少させた (P=0.0027)。ET-1 産生の平均値は減少傾向にあった。[考察及び論文の価値] 表皮細胞は分化誘導時のトロンビン刺激時に血管平滑筋収縮性のTBXAS1, EDN1 遺伝子の発現が変化し、その遺伝子産物であるTXA<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>), ET-1 産生が亢進し、さらに、この反応をヒルジンが抑制することが判明した。本研究により、ヒルジンは血管の血液凝固系への直接作用だけでなく、血管外組織に対し循環機能に影響する生理活性物質の産生にまで関与していることが強く示唆された。本論文はヒルジンがヒト表皮細胞の血管作動性物質産生に及ぼす影響を明らかにした価値ある論文である。

[審査概要] 審査は主査と副査2名に1名の陪席者のもと開催した。約20分間の発表は研究の意義から始まり理解しやすく工夫された内容であった。質疑応答では医療用ヒル使用の実際、培養ヒト未分化表皮細胞および分化表皮細胞による本モデルの妥当性、PCRとELISAの相関性などが討議され丁寧な回答があった。ヒルジンが凝固機能のみならず表皮の血管作動性物質産生に影響を与えることの発見は、今後の臨床での医療ヒル使用に妥当性を与えてくれたことを、熱意を持って説明し、今後も臨床での疑問を研究で解き明かしたいとの意欲を語った。

## 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] 本研究ならびに関連領域に関する専門的知識は十分に研究への貢献度も高く、研究遂行能力も評価された。審査には真摯な態度で、礼儀正しく、形成外科診療ならびにそれに根ざした研究に対する熱意が感じられた。英語読解力は引用英文文献の一編を指定し、その場での和訳を行い、十分な読解力があると判断した。以上より、申請者の林京子氏は学位授与に値すると判断された。