

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
葉山芳貴	主査教授 森脇 真一 副査教授 吉田 龍太郎 副査教授 河田 了 副査教授 大槻 勝紀
主論文題名 Optimum preservation for autologous cultured dermal substitutes (自家培養真皮における至適保存条件の検討)	
学位論文内容の要旨	
《目的》 自家培養真皮は患者の手術日に合わせて約3週間かけて作成されるが、急遽手術が延期となる場合がある。そこで、自家培養真皮の品質を担保できる至適保存条件を検討した。 《方法》 自家培養真皮を4℃、25℃、37℃の各条件で1週間毎に培地交換を行って、2週間保存した。2週間保存後のMTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 活性と培地交換を行うごとにVEGF (vascular endothelial growth factor) 産生量を測定し、最適な保存条件を検討した。 《結果》 保存14日目の線維芽細胞のMTT活性は37℃の条件で最も高く保持され、コントロール群との間に有意差はなかった。しかし、25℃、4℃条件下ではコントロール群との間に有意差(p<0.01)を持って低下した。	

VEGF 産生量は保存開始日との比較において、37°Cの条件で7日目では2.72倍、14日目では4.51倍に亢進し、それぞれ有意差($p<0.01$)を認めた。

25°Cの条件ではVEGF産生は低下し、保存開始日との比較で7日目、14日目ともに有意差(それぞれ $p<0.05$, $p<0.01$)を認めた。4°Cの条件ではVEGF産生は著しく低下し、保存開始日との比較で7日目、14日目ともに有意差($p<0.01$)を認めた。

《考 察》

自家培養真皮は37°Cの条件下で十分量の培養液中で保存し、1週毎の培養液の交換により37°Cで2週間、MTT活性を保持できた。一方、VEGF産生量はMTT活性と相関せず、有意差を持って著しく亢進した。このことは密閉保存によって、培養液が低酸素状態に陥ったためにVEGF産生が亢進したからであると考えられる。

25°C、2週間の保存条件ではMTT活性は57.1%に、VEGF産生量は40.6%に低下した。また、4°C、2週間の保存条件ではMTT活性は31.1%に、VEGF産生量は3.3%に低下した。これらはともに低温条件によるミトコンドリア酵素活性の低下などによってVEGF産生能が低下したためであると考えられる。低温条件による細胞への影響は脳の神経細胞や血管内皮細胞でよく調べられており、30°C以下で細胞に障害が生じ始める事が知られている。線維芽細胞に関しても同じ事が言えると推察される。

2週間までの保存でMTT活性、VEGF産生量がともに減少しない条件は37°Cの条件である事が示された。

自家培養真皮中の線維芽細胞の活性を高く保持できる保存条件の設定は臨床応用において実践的な課題である。本研究より37°Cで自家培養真皮の性能を保持できる事が示された事は臨床使用に貢献するところが大きいと考えられる。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	葉山芳貴
論文審査担当者		主査教授 森脇 真一	
		副査教授 吉田 龍太郎	
		副査教授 河田 了	
		副査教授 大槻 勝紀	
主論文題名			
Optimum preservation for autologous cultured dermal substitutes (自家培養真皮における至適保存条件の検討)			
論文審査結果の要旨			
<p>自家培養真皮は患者の手術日に合わせて約 3 週間かけて作成されるが、急遽手術が延期となる場合がある。手術が延期となった場合、作成した自家培養真皮は廃棄され、3 週間以上後に新たな手術日を設定し、自家培養真皮を作り直していた。</p> <p>本研究は、MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 活性と VEGF (vascular endothelial growth factor) 産生量を指標に、自家培養真皮の至適保存条件を検討したものである。</p> <p>自家培養真皮を 4℃、25℃、37℃の各条件で 1 週間毎に培地交換を行って、2 週間保存した。培地交換を行うごとに VEGF 産生量を測定し、2 週間保存後の MTT 活性を測定し、最適な保存条件を検討した。</p> <p>保存 14 日目の線維芽細胞の MTT 活性は 37℃の条件で最も高く保持され、コントロール群との間に有意差はなかった。しかし、25℃、4℃条件下ではコントロール群との間に有意差を持って低下した。一方、VEGF 産生量は保存開始日との比較において、37℃の条件で 7 日目では 2.72 倍、14 日目では 4.51 倍に亢進し、それぞ</p>			

れ有意差を認めた。25°Cの条件では VEGF 産生は低下し、保存開始日との比較で 7 日目、14 日目ともに有意差を認めた。4°Cの条件では VEGF 産生は著しく低下し、保存開始日との比較で 7 日目、14 日目ともに有意差を認めた。

2 週間までの保存で MTT 活性、VEGF 産生量がともに減少しない条件は 37°C の条件である事が示された。

以上の結果、37°Cの条件下で十分量の培養液中で保存できることが明らかになった。これらのデータは、自家培養真皮の保存条件に関する新知見を示すものであり、臨床医学に貢献するところが大きいと考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するのと認める。

(主論文公表誌)

Annals of Plastic Surgery 2010 in press