

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 河 崎 貴 宣

主論文 1編

Novel detergent for whole organ tissue engineering.

Journal of Biomedical Materials Research Part A 103:3364-3373, 2015

## 審査結果の要旨

心不全の最終的な治療手段として、心臓移植もしくは左室補助デバイスの使用が必要となる。しかしながら、これらの治療方法もドナー不足や免疫抑制剤による有害事象などの欠点がある。今後は、再生医療や幹細胞による組織修復治療が期待されているものの、幹細胞の足場となる組織構築技術が未確立である。最近、組織工学的手法により臓器全体を用いた脱細胞も可能になった。しかしながら、従来から使用されている硫酸ドデシルナトリウム(SDS)は細胞外マトリクスに障害を与えることが知られている。このような変化が再細胞化へ悪影響を与え、炎症反応や血栓形成に寄与している可能性がある。そこで我々は新規界面活性剤ラウリルエーテル硫酸ナトリウム(SLES)を用いて脱細胞組織を形成し従来の方法で作製した脱細胞組織と比較検討を行った。

申請者らはまず10-12週齢のWistar ratの心臓を用いて順行性灌流により脱細胞組織の作製を行った。トリパンプルーを注入し、血管外や心外膜への漏出がないことを確認した。HE/DAPI染色により、細胞成分の残存と遺伝性物質の残存は、どちらのプロトコールでも十分に除去されていることが確認できた。また、DNA残存量を測定したところ、いずれのプロトコールでも十分に除去されていることが確認できた。また、細胞外マトリクス構成タンパク質を解析したところ、どちらのプロトコールでも構成タンパク質が確認でき、同等の脱細胞能であることが確認できた。

次に申請者らは脱細胞組織の微小構造を確認するために走査顕微鏡を用いて観察を行った。SLESで処理した心臓組織では細胞外マトリクスの微小構造が保持されていたが、SDSで処理した心臓組織では層状構造が破壊されていることが明らかとなった。さらに、糖鎖の高次構造を確認するためにアルシアンブルー染色、硫酸化グリコサミノグリカンの定量、GlycoStationによるグリカンプロファイリングを行った。硫酸化グリコサミノグリカンはSLESで処理した心臓では残存していたのに対し、SDSで処理した心臓では検出されなかった。他のグリカンはGlycoStationにて解析したところ、SLESで処理した心臓は親水性タンパク質分画の組成が元の心臓の組成と類似している一方、疎水性タンパク質分画の組成はSDSで処理した心臓の組成と類似していることが明らかとなった。これはサイトカインのような親水性のタンパク質がSLESで処理した心臓で有意に多く残存していることが示唆された。さらに、サイトカインの解析を行ったところ、basic FGFが有意にSLESで処理した心臓で多く残存していることが確認できた。

次に申請者らは脱細胞組織の抗血栓性を評価するために脱細胞組織への血小板付着能を評価した。その結果、SLESで処理した組織への血小板付着能が少なく、抗血栓性を有していることが示唆された。また、炎症惹起性を評価するため脱細胞組織の腹腔内腸間膜への移植実験を行った。その結果、SLESで作製した脱細胞組織で細胞浸潤が有意に少なく、SDSで作製した脱細胞組織より炎症惹起作用が低いことが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、Whole Organ Tissue Engineeringにおける標準プロトコールに新規界面活性剤SLESが有用である可能性を明らかにした点で医学上価値のある研究と認める。

平成28年2月18日

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊦

審査委員 教授 佐 和 貞 治 ㊦

審査委員 教授 濱 岡 建 城 ㊦