



Title	Adipose-derived stem cells using fibrin gel as a scaffold enhances post-hepatectomy liver regeneration
Author(s)	今村, 宏輝
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/103126
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	今村 宏輝
論文題名 Title	Adipose-derived stem cells using fibrin gel as a scaffold enhances post-hepatectomy liver regeneration (フィブリングルを足場とした脂肪由来幹細胞は肝切除後の肝再生を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Objective)〕	
<p>肝切除後の肝不全はしばしば致死的な経過をたどる重大な合併症であるが、現時点では肝移植以外に有効な治療法は存在せず、新たな治療法の開発は喫緊の課題である。脂肪由来幹細胞（ADSC）は、肝臓を含む様々な臓器障害モデルで組織再生効果が示されている有望な細胞ソースであり、肝切除後の肝不全にも治療効果が期待されている。ADSCの投与方法に関しては、パラクライン効果を期待すべく、足場となる素材と共に障害部位へ局所的に投与することが重要とされているものの、肝障害モデルに対するADSCの局所投与の効果は検討されていない。そこで本研究では、肝障害モデルとして肝切除モデルを採用し、ADSCの足場としてはすでにその有効性が報告されているフィブリングル（FG）を使用し、肝切除後の肝再生に対するADSCの局所投与の効果を検証することとした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>まずC57BL/6Jマウスを用いた検討を行った。70%肝切除モデルを作成し、治療群（n=5）では1×106個のADSCをFG 200 μLを足場として残肝表面に直接貼付（局所投与）した（gel群）。対照群（n=5）ではFG 200 μLのみを残肝に局所投与し、各群術後1週間まで観察した。術後の残肝体重比は、術後2日目の時点でgel群で有意に高値であった（3.4±0.1% vs. 2.9±0.2%, p<0.05）。術後2日目時点の残肝の組織標本を評価すると、HE染色にてgel群では対照群と比較して肝細胞内の脂肪滴が減少しており、またPCNA染色では陽性細胞数が2.2倍に増加していた。残肝から抽出したmRNAを用いた定量RT-PCRでは、脂肪分解（β酸化）に関与するCpt-1a、Crot、Ppar αのmRNAの発現は対照群と比較してgel群で2.5、2.6、3.4倍に上昇していた。Gel群のADSC局所投与効果と比較すべく、70%肝切除モデルに1×106個のADSCを尾静脈より投与するモデル（iv群）を作成し（n=5）、術後の肝再生を評価したところ、術後7日目までの残肝体重比はiv群とgel群では同等であり、ADSCの局所投与は静脈投与と並んで有効な治療法だと考えられた。</p> <p>次に、慢性障害肝における肝切除に対するADSC局所投与の効果を検討した。C57BL/6Jマウスにチオアセトアミドを5週間腹腔内投与して慢性肝障害モデルマウスを作成した。その上で70%肝切除を施行し、gel群（n=5）と対照群（n=5）において術後1週間経過観察を行った。術後の残肝体重比は、術後3日目の時点でgel群では対照群と比較して有意に高値であった（3.7±0.1% vs. 3.4±0.1%, p<0.05）。術後3日目の残肝のHE染色ではgel群において肝細胞内の脂肪滴が減少しており、またPCNA染色では陽性細胞数が対照群と比較して1.9倍に増加していた。残肝から抽出したmRNAを用いた定量RT-PCRでは、gel群でCpt-1a、Crot、Ppar αの発現量が対照群と比較して2.3、3.7、3.8倍に上昇していた。さらに慢性肝障害モデルにおいても、ADSCを尾静脈より投与してiv群を作成した（n=5）。その結果、慢性肝障害モデルではgel群において、術後3日目の残肝体重比がiv群より有意に高値であり（3.7±0.1% vs. 3.3±0.2%, p<0.05）、また術後3日目時点での残肝の組織標本ではPCNA陽性細胞の数がiv群よりも2.0倍に増加しており、さらにmRNAの発現量はCpt-1a、Crot、Ppar αにおいてiv群の2.1、2.1、2.5倍に増加していた。</p> <p>最後に本研究における肝再生の機序の1つとして、ADSCが分泌するエクソソームを評価した。エクソソーム分泌抑制を目的としてADSCにALIX-siRNAを導入し、エクソソームの分泌が抑制されたADSCを作成した。このADSCを、FGを足場として70%肝切除モデルマウスに局所投与し（gelsiALIX群）、gelsiControl群と比較することで術後の肝再生を評価した。その結果、gelsiALIX群では術後2日目の残肝体重比が有意に低値であり（3.5±0.2% vs. 3.8±0.2%, p<0.05）、また術後2日目時点での残肝から抽出したmRNA発現量は、CrotとPpar αがgelsiALIX群でそれぞれ0.4倍、0.6倍に低下していた。以上よりADSCが分泌するエクソソームは、β酸化経路を介して肝切除後の肝再生に関与していることが示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
FGを足場としたADSCの肝表面への局所投与は、ADSC由来のエクソソームなどにより肝切除後の肝再生を促進させ、特に慢性肝障害が背景にある場合にはその効果は静脈投与よりも有用な可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 今村 宏輝			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査 大阪大学教授	江口 英利	署名
	副 査 大阪大学教授	垣田 誠司	署名
副 査 大阪大学教授	山本 三洋	署名	
論文審査の結果の要旨			
<p>本論文では、肝切除後の肝再生における、フィブリングル (FG) を足場とした脂肪由来幹細胞 (ADSC) の局所投与の効果を検討し、特に汎用されているADSCの静脈投与との比較を行うことを目的とした。C57BL/6マウスに70%肝切除を施し、残肝の表面にFGを足場としてADSCを局所投与した。その結果、正常肝に対する実験では、ADSCの局所投与により肝細胞の細胞周期やβ酸化経路の活性化を介して肝再生に寄与しており、その効果はADSCを静脈投与した場合と同等であった。一方で慢性肝炎が背景にある場合には、ADSCの局所投与は静脈投与をも上回る肝再生効果が観察された。さらに、FGを足場としたADSCの局所投与では、ADSCから分泌されるエクソソームがサイトカインの分泌やβ酸化の活性化に寄与して、肝切除後の肝再生を亢進していることが示された。本研究の結果はScientific Reports誌に掲載され、学位の授与に値すると考えられる。</p>			