



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 創傷治癒過程におけるヒアルロン酸合成酵素HAS2および新規ヒアルロン酸分解酵素TMEM2の解析                                                                                                                                                                                                                            |
| Author(s)    | 下岡, 拓矢                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Citation     | 大阪大学, 2023, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/91838">https://hdl.handle.net/11094/91838</a>                                                                                                                                                                                        |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 氏 名 ( 下 岡 拓 矢 )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                 |
| 論文題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 創傷治癒過程におけるヒアルロン酸合成酵素HAS2および新規ヒアルロン酸分解酵素TMEM2の解析 |
| <p>論文内容の要旨</p> <p>背景：口腔癌や口唇裂・口蓋裂の治療において、創傷治癒の遷延や創部瘢痕などの問題点は臨床的課題である。創傷治癒とヒアルロン酸（以下 HA）の関係については、これまでに数多くの報告がある。HA は1日で体内の約 3 分の 1 が代謝され、他の細胞外マトリックスと比べて極めて代謝が早いことが特徴である。またその分子量に伴い機能が異なることが報告されている。高分子 HA は抗血管新生作用や抗炎症作用があり、低分子 HA は血管新生作用、炎症作用やアポトーシス抑制作用など相反する作用があることが報告されている。しかし、HA と創傷治癒に関して発現部位や時期特異性などその影響について未だ不明な点が多く存在する。</p> <p>HA の代謝に関わる合成酵素は 3 種類 (Has1, Has2, Has3) 報告されており、その種類により発現分布と役割そして合成された HA の分子量が異なることが報告されている。中でも Has2 は線維芽細胞および角化上皮細胞のいずれでも高発現しているとの報告があり、詳細な検討が必要と考えた。また 2017 年に新たな HA 分解酵素として TMEM2 が報告された。Has2 と創傷治癒に関する組織特異的なノックアウトマウスを用いた研究は報告されておらず、また TMEM2 と創傷治癒の関連性に関する報告はない。</p> <p>目的：ヒアルロン酸合成酵素である Has2 や、2017 年に報告された新たなヒアルロン酸分解酵素である TMEM2 をターゲットとして、組織特異的遺伝子改変マウスを用いて HA や TMEM2 の創傷治癒過程における分布・発現部位やその局在の変化などの解析を試みると同時に、実臨床において創傷治癒治療に活かせるようにその方法を検討する。</p> <p>方法：C57BL/6 野生型マウスの尾上皮に径 3×10 mm の上皮欠損創を作成し、創傷治癒過程における HA の局在を病理組織学的に観察した。Has2 K14-Cre マウスと Has2 colla2-CreERT2 マウス尾部に径 3×10 mm の上皮欠損創を作成し、創傷治癒速度の測定をした。同時に各治癒過程における H&amp;E 染色と HA の免疫染色を行い、HA の量および局在を観察した。Has2 colla2-CreERT2 マウスにおける炎症細胞浸潤数の観察を行った。TMEM2-flag ノックインマウス尾部に径 4×15 mm の上皮欠損創を作成し、創傷治癒過程における TMEM2 の発現部位と発現量、また HA の局在を観察した。また、TMEM2 K14-Cre マウス尾部に径 4×15 mm の上皮欠損創を作成し、創傷治癒速度の測定を行った。同時に各治癒過程における H&amp;E 染色と HA の免疫染色を行い、HA の量および局在を観察した。</p> <p>結果：通常上皮で低発現の HA が、創傷治癒上皮伸長過程において上皮先端に高発現した。上皮下結合組織においては、正常時でも HA は上皮に比して高発現であり、創傷時には正常時より多く発現した。Has2 K14-Cre マウス、Has2 colla2-CreERT2 マウスと TMEM2 K14-Cre マウスにおいて、創傷治癒の有意な遅延を認めた。また Has2 K14-Cre マウスではコントロール群に比して、創傷治癒過程における上皮内の HA 発現が減少する傾向が認められた。Has2 colla2-CreERT2 マウスは、創傷作成後 0 日目、20 日目では有意に結合組織内の HA は減少する一方、12 日目で結合組織内の HA 発現がコントロール群より上昇した。また、Has2 colla2-CreERT2 マウスは炎症細胞浸潤が減少していた。TMEM2 は正常時に上皮で高発現していた。創傷治癒過程において、創傷治癒上皮欠損部において伸長する上皮の先端よりやや遠位に TMEM2 の高発現を認めた。TMEM2 K14-Cre マウスは上皮内の HA 発現が有意に上昇した。</p> <p>結論：上皮創傷治癒過程においてヒアルロン酸合成酵素である Has2 やおよびヒアルロン酸分解酵素である TMEM2 が重要であることが示唆された。</p> |                                                 |

論文審査の結果の要旨及び担当者

|                 |     |     |       |
|-----------------|-----|-----|-------|
| 氏 名 ( 下 岡 拓 矢 ) |     |     |       |
|                 | (職) | 氏 名 |       |
| 論文審査担当者         | 主 査 | 教授  | 田中 晋  |
|                 | 副 査 | 教授  | 豊澤 悟  |
|                 | 副 査 | 准教授 | 波多 賢二 |
|                 | 副 査 | 講師  | 犬伏 俊博 |

**論文審査の結果の要旨**

本研究は、創傷治癒過程におけるヒアルロン酸合成酵素である HAS2 や HA の新規分解酵素である TMEM2 の関与を明らかにする目的で、組織特異的遺伝子改変マウスの尾上皮創傷治癒モデルを用いて治癒過程における HA, TMEM2 の発現様相について検討を行った。

その結果、HA は創傷治癒過程において上皮内、上皮下に発現することで治癒の促進に関わっていること、 および上皮内の TMEM2 は HA の発現を定常状態に制御していることが示唆された。

以上の結果は、創傷治癒において HAS2, TMEM2 が関与する重要な知見を示すものであり、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。