



TITLE:

Glucocorticoids suppress fibroblast apoptosis in an in vitro thermal injury model( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Matsuura, Yoshitaka

---

CITATION:

Matsuura, Yoshitaka. Glucocorticoids suppress fibroblast apoptosis in an in vitro thermal injury model. 京都大学, 2021, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2021-11-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13452>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏名	松浦 喜貴
論文題目	Glucocorticoids suppress fibroblast apoptosis in an in vitro thermal injury model (グルココルチコイドは in vitro 熱傷モデルにおける線維芽細胞のアポトーシスを抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>熱傷の深達度は臨床的に重要であり、治療方法に直結する。皮膚全層に至る損傷は、3度熱傷と言われ、デブリードマンや植皮術といった手術的治療が中心となる。一方、真皮への部分的な熱傷は2度熱傷と言われ、浅達性と深達性に分けられる。浅達性2度熱傷は癒痕形成することなく、2週間以内に治癒する。深達性2度熱傷や3度熱傷のような深い熱傷では、治癒に時間を要し、治癒後も皮膚の癒痕が生じる。肥厚性癒痕や癒痕拘縮は、整容的にも機能的にも障害を残しやすい。また、熱傷は経時的に深くなることもあり、これは burn wound progression または conversion と呼ばれる。もし、この現象を抑えることができれば、治癒期間を短縮し、癒痕形成を最小限にすることができる可能性がある。これまで組織学的な研究が行われ、進行する原因として炎症の持続、微小血管の閉塞、血流の低下が述べられてきた。しかし、未だメカニズムの解明には至っていない。今回、これを解明する一手段として、細胞そのものに着目し、真皮を構成する主な細胞である線維芽細胞に熱を加えるオリジナルの vitro 熱傷モデルを作成し、細胞の変化を調べた。</p> <p>細胞は、ラットの背部の皮膚を採取し、培養した線維芽細胞を用いた。カバーガラス上に細胞を播種し、熱傷作成装置を用いて 41°C、46°C、55°C の温度設定で 30 秒間熱を加えた。予め、熱傷モデルの再現性を確認するために、熱を加えてからの温度の経時変化を調べておいた。いずれも約 5 秒で最大温度に到達し、同一の温度設定では差異がないことを確認した。そして、まず、熱を加えてからの 24 時間後の生細胞と死細胞の観察を行った。温度が上昇すれば、生細胞が減少し、死細胞が増加する結果が得られた。次に、生細胞、ネクローシス、アポトーシスについてそれぞれの温度での定量を行った。温度上昇により生細胞は減少し、ネクローシスは増加した。一方、アポトーシスは中間の温度である 46°C で多い結果が得られた。</p> <p>次に、アポトーシスを抑制できるかどうかを検証するために、アポトーシスの多いモデル (46°C30 秒の設定) でグルココルチコイドの一種であるベタメタゾンを熱傷直後に添加して、24 時間後の観察を行った。生細胞、ネクローシス、アポトーシスについてベタメタゾン群とコントロール群と比較したところ、ネクローシスは2群間で有意な差はなかったが、生細胞はベタメタゾン群で有意に多く、アポトーシスはベタメタゾン群で有意に少ない結果が得られた。このことより、熱傷の線維芽細胞のアポトーシスは、ベタメタゾンにより抑制され、生細胞を多く残せる可能性が示唆された。</p> <p>ステロイドの皮膚への投与はアトピー性皮膚炎に代表されるように炎症を抑える目的で使用される。同様に、熱傷創へのステロイド軟膏の使用も、抗炎症目的で用いられ、2度熱傷に有効であったとの報告がある。本研究ではグルココルチコイドの使用による抗アポトーシス効果により、真皮の主要構成細胞である線維芽細胞を多く残すことができた。さらなる検証には非臨床研究の追加及び臨床研究が必要であるが、グルココルチコイドによるアポトーシス抑制効果は burn wound progression の予防に寄与する可能性があると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

熱傷の深度は経時的に深くなることもあり、burn wound progression と呼ばれる。この現象を抑えることができれば、治癒期間は短縮し、癒痕形成を最小限にできる。感染、炎症の持続、微小血管の閉塞、細胞死などが要因として挙げられる。今回、細胞死に注目し、in vitro 熱傷モデルの開発を行った。そして、アポトーシス、ネクローシスの生じる温度を調べ、さらにグルココルチコイドが細胞死に与える影響について検証実験を行った。

まず、ラットの背部の皮膚を採取し、線維芽細胞の培養を行った。細胞が播種されたカバーガラスに熱を加えて実験した。熱傷温度と時間は、41°C30 秒、46°C30 秒、55°C30 秒とし、熱傷 24 時間後に細胞死の状態を調べた。さらにベタメタゾンを熱傷直後に加えて、細胞死への影響を調べた。生細胞数は 41、46、55°C と温度上昇するに従い減少し、逆にネクローシス数は温度上昇に伴い増加した。一方、アポトーシス数は中間の温度である 46°C で多く、アポトーシスはネクローシスよりも低い温度で生じていた。また、ベタメタゾン投与実験では、ベタメタゾン群では、投与しないコントロール群と比較して、生細胞数は有意に多く、アポトーシス数は有意に減少した。一方、ネクローシス数については、2 群間の有意差は認めなかった。ベタメタゾンは熱損傷そのものによるアポトーシスを抑制することから、初期の burn wound progression の予防に寄与する可能性が示唆された。

以上の研究は熱傷早期の細胞死モデルを構築し、ベタメタゾンの細胞死抑制効果の可能性を示唆した。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 10 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降