



Title 論文題目	Altered regulation of mesenchymal cell senescence in adipose tissue promotes pathological changes associated with diabetic wound healing 脂肪組織における間葉系細胞の細胞老化は糖尿病性創傷の病的変化を促進する
Author(s) 著者	北, 愛里紗
Degree number 学位記番号	甲第3176号
Degree name 学位の種別	博士(医学)
Issue Date 学位取得年月日	2022-09-30
Original Article 原著論文	Commun Biol. 2022 Apr 5;5(1):310
Doc URL	
DOI	10.1038/s42003-022-03266-3
Resource Version	Author Edition

学位論文の内容の要旨

報告番号	甲第1540号	氏名	北 愛里紗
論文題名			
Altered regulation of mesenchymal cell senescence in adipose tissue promotes pathological changes associated with diabetic wound healing 脂肪組織における間葉系細胞の細胞老化は糖尿病性創傷の病的変化を促進する			
研究目的			
<p>糖尿病性潰瘍は難治性潰瘍であり、有効な治療法の開発が国際的に望まれている。潰瘍部に起こる慢性炎症の制御が新たな治療法開発の鍵と推測されるものの、未解明な点も多い。慢性炎症の原因の一つとして着目されている細胞老化は、もともと細胞にダメージが加わったとき、異常な細胞増殖を止めるためのがん抑制機構として知られる。老化細胞は、自らの増殖を止めるとサイトカインやケモカインなど様々な因子の分泌現象(細胞老化関連分泌形質 Senescence Associated Secretory Phenotype: SASP)を起こす。この SASP によって免疫細胞が誘導され、老化細胞自身は貪食されて組織のクリアランスを促すことで、組織の修復・再生に至る。しかし、慢性炎症において老化細胞がクリアランスされず蓄積することで病態を引き起こすことが数多く報告され、組織修復を促す細胞老化と慢性炎症を誘導する細胞老化の違いは何なのか、その謎の解明が重要視されている。</p> <p>糖尿病患者では全身の脂肪組織に慢性炎症が起こっており、多様な炎症性サイトカインが過剰に発現し、創傷治癒を遷延させることが既に知られている。糖尿病性潰瘍の成因に、脂肪組織における細胞老化の異常性との関係性が強く示唆されるものの、既存研究のほとんどは潰瘍表面および皮膚のみを対象として解析されているため、皮膚の深部にある脂肪組織との関係性は解明されていない。本研究の目的は、皮膚の創傷治癒過程における脂肪組織の細胞老化を明らかにし、難治とされる糖尿病性潰瘍の新しい治療ターゲットを探索することである。</p>			
研究方法			
<p>2 型糖尿病マウス(<i>Lepr^{db/db}</i>)と非糖尿病マウス(<i>Lepr^{db/+}</i>)の背部に開放創を作成し、2 日後、8 日後で組織を採取し、PCR および免疫組織化学法を用いて、細胞老化関連遺伝子の発現量解析および細胞老化を呈する細胞の同定を行った。脂肪組織が皮膚創傷治癒に与える影響を検討するため、蛍光色素 DiI でラベルした糖尿病マウスの皮下脂肪組織を非糖尿病マウスの背部皮下に移植した群(疾患群)と、非糖尿病マウスの皮下脂肪組織を非糖尿病マウスに移植した群(コントロール群)において創傷治癒過程およ</p>			

び脂肪由来細胞の局在を解析した。さらに、糖尿病マウスおよび非糖尿病マウスの皮下組織が産生する SASP 因子の違いを解析するため、脂肪組織を培養し、培養上清の SASP 因子を抗体アレイ解析を行った。次いで、SASP を含む培養上清でマウス線維芽細胞を培養し、創傷治癒アッセイを行った。最後に、糖尿病患者および非糖尿病患者から得られた組織検体を用い、免疫組織化学法を用い解析を行った。

研究成績及び考察

開放創作成後 2 日、8 日における皮膚、皮下脂肪組織における細胞老化関連因子の発現量を解析したところ、非糖尿病マウスの皮下脂肪組織において、開放創作成後 2 日で細胞老化関連遺伝子が一過性に増加したが、糖尿病マウスでは開放創作成後 2 日における一過性の細胞老化関連遺伝子の発現増加は認められなかった。次に、組織学的解析によって、非糖尿病マウスの皮下脂肪組織で一過性に老化する細胞が間葉系細胞であることを明らかにした。さらに、非糖尿病マウスでは老化した間葉系細胞が開放創作成後 8 日で減少するのに対し、糖尿病マウスでは開放創作成後 8 日の時点でも老化した間葉系細胞が蓄積することを明らかにした。次に、皮下脂肪組織が創傷治癒の遅延に関与するかどうかを検討するため、糖尿病/非糖尿病マウスの皮下脂肪組織をそれぞれ、非糖尿病マウスに移植したところ、糖尿病マウスの皮下脂肪組織を移植された群で、有意に創傷治癒が遅延することがわかった。その時、脂肪由来細胞は創傷治癒過程の真皮にはほとんど存在しないことから、液性因子によって創傷治癒を制御している可能性を見出した。そこで、脂肪組織が分泌する SASP 因子の違いを糖尿病/非糖尿病マウスでそれぞれ解析したところ、SASP 因子の発現パターンの違いを認めた。さらにそれらの SASP 因子を含む培地で線維芽細胞を培養し、創傷治癒アッセイを行ったところ、糖尿病マウス由来の SASP は創傷治癒を抑制することを *in vitro* で明らかにした。最後に、ヒト検体を用いた解析によって、糖尿病患者において、創傷形成後の経過日数が多いほど、老化間葉系細胞の割合が増加することを明らかにした。

結論

本研究は、正常な創傷治癒では皮下脂肪組織における間葉系細胞の一過性の細胞老化とそれに伴う SASP の分泌が創傷治癒を促す一方で、糖尿病では皮下脂肪組織に老化した間葉系細胞が蓄積し、創傷治癒を阻害する SASP を分泌することで少々治癒を遷延させる可能性をマウスを用いた実験で明らかにした。この病態は糖尿病性潰瘍患者においても同様であり、糖尿病性潰瘍の病態に細胞老化が影響していることが強く推察された。これらの結果から、皮下脂肪組織に存在する間葉系細胞の細胞老化制御が、糖尿病性潰瘍の新しい治療アプローチになる可能性を示した。

論文審査の要旨及び担当者

令和5年4月7日提出

(令和4年9月30日授与)

報告番号	甲第 1540 号	氏名	きた ありさ 北 愛里紗
論文審査 担当者	主査 四ッ柳 高敏	副査 藤宮 峯子	
	副査 宇原 久	委員 大崎 雄樹	

論文題名	Diabetic wound impaired injury-induced transient senescence in adipose tissue that promotes the normal wound healing process 脂肪組織における間葉系細胞の細胞老化は糖尿病性創傷の病的変化を促進する
結果の要旨	<p>本研究は、正常な創傷治癒では皮下脂肪組織における間葉系細胞の一過性の細胞老化とそれに伴う Senescence associated secretory phenotypes (SASP)因子の産生によって創傷治癒を促す。一方で、糖尿病では皮下脂肪組織に老化した間葉系細胞が蓄積し、その SASP は創傷治癒を阻害する可能性を、糖尿病モデルマウスを用いた実験で明らかにした。この病態は糖尿病性潰瘍患者においても同様であり、糖尿病性潰瘍の病態に細胞老化が影響していることが強く推察された。これらの結果から、皮下脂肪組織に存在する間葉系細胞の細胞老化制御が、糖尿病性潰瘍の新しい治療アプローチになる可能性を示した。</p> <p>以上の研究結果および質疑応答を踏まえ、博士（医学）の学位授与を審査委員全員に承認された。</p>