

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	仲田 恭平
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目 Skeletal muscle injury treatment using the Silk Elastin® injection in a rat model（ラット骨格筋損傷モデルを用いた、シルクエラスチンゲル注射による骨格筋治療効果の検討）			
論文審査担当者			
主査	教授	平田 信太郎	印
審査委員	教授	日向 信之	
審査委員	准教授	茂久田 翔	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>骨格筋損傷は、活動性の高い若年者に高頻度に生じる損傷で知られており、スポーツ損傷の 30～55%を占めるとされている。その治療には長時間を要し、再発率も 30～60%と高いことが臨床上的の問題点である。その原因として、癒痕組織形成を伴う不完全な筋修復が挙げられる。骨格筋損傷治療は、RICE（安静、冷却、圧迫、挙上）療法に代表される保存療法が一般的であるが、骨格筋修復を促す積極的治療は確立されていない。現在、骨格筋損傷に対する治療法の開発に向けた研究は、主に 2 つのアプローチで進められている。一つは筋修復を促進するために筋前駆細胞を標的とした治癒促進因子や足場材料などであり、他方、癒痕形成の抑制を標的とするものである。本研究の目的は、高い細胞親和性を有し、ゲルやシート、スポンジなどへの加工が容易な素材である人工タンパク質 シルクエラスチンに着目し、ラット骨格筋損傷モデルを用いたシルクエラスチンゲルによる治療効果を明らかにすることである。</p> <p>本研究は <i>in vitro</i> 実験として、12 週齢 SD ラットの前脛骨筋から単離した線維芽細胞を用いてシルクエラスチンによる遊走能に対する影響を評価した。<i>In vivo</i> 実験では、12 週齢 SD ラット前脛骨筋に長さ 6 mm、幅 4 mm、深さ 5 mm の損傷を作成したラット骨格筋損傷モデルを用いて実験を行った。骨格筋損傷モデルに 12.5%シルクエラスチンゲルと PBS 溶液、3%アテロコラーゲンゲルを各 50μl 投与し、それぞれ SE 群、PBS 群、Atelo 群を設定し、3 群間での比較を行った。損傷作成後 1 週と 4 週における組織学的評価、4 週での再生筋の機能的評価を行った。組織学的評価は、骨格筋（矢状断）における Masson-trichrome 染色による癒痕組織面積比、骨格筋（横断面）における Hematoxylin-eosin 染色による中心核を有する再生筋の筋径と単位面積当たりの筋線維数により行われた。再生筋の機能評価は、総腓骨神経刺激による単収縮力と強縮力により行われた。また、損傷後 1 週の骨格筋（横断面）を用いて筋線維の間質に発現する TGFβ 1 の蛍光免疫染色を行い、蛍光光度を画像ソフトにより数値化することで評価した。加えて、1 週の癒痕組織における筋修復マーカー遺伝子（<i>Pax7</i> と <i>MyoD</i>）、線維化マーカー遺伝子（<i>TGFβ1</i>）の発現を解析した。</p> <p><i>In vitro</i> 実験において 10⁴ μg/ml のシルクエラスチン添加群で培養線維芽細胞の遊走が抑制された。ラット骨格筋損傷モデルにおいて、損傷後 1 週では癒痕組織面積比が PBS および SE 群に比べて Atelo 群で有意に大きい結果であった。再生筋組織学的評価では、各群における有意な差はなかった。損傷後 4 週では、PBS および Atelo 群に比べて SE 群で有意に癒痕面積比が小さく、癒痕形成が抑制されていた。また、再生筋評価においても SE 群で有意に再生筋径が大きく、単位面積当たりの再生筋線維数が少ないことから、SE 群で筋再生が促進されていた。さらに、機能的評価においても単収縮力と強縮力ともに SE 群が有意に優れていた。損傷後 1 週における筋間質に発現する TGFβ 1 の蛍光光度は、PBS 群に対して SE 群で有意に低下しており、癒痕組織における TGFβ 1 の発現も SE 群と Atelo 群では PBS 群に</p>			

対して有意に低下していた。

以上の結果から、12.5%シルクエラスチンゲルの局所投与は、筋修復における癒痕形成を抑制し、組織学的および機能的に良好な修復が得られることが示された。シルクエラスチンは、培養線維芽細胞の遊走抑制を誘導し、in vivo 実験における組織免疫染色や遺伝子発現解析においても TGF β 1 の有意な低下を示したことから、筋損傷後の過剰な線維芽細胞集積を抑制し、損傷部の血腫形成を阻害することで血腫内の血小板やマクロファージから分泌される TGF β 1 を抑制した結果、良好な組織修復を誘導したと考察した。

以上のとおり、シルクエラスチンは癒痕形成を抑制し、良好な筋組織修復を誘導したことから、シルクエラスチンの局所投与による新たな筋損傷治療への可能性が示された。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。