

## 論文の内容の要旨

氏名：石川 三友紀

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：マウス皮膚欠損修復過程における成熟脂肪細胞の形質転換及び組織再生に関する検討

細胞の可塑性には、脱分化と分化転換の2種類が存在する。このような細胞の可塑性は、魚類や有尾両生類において、組織傷害に対する正常な応答であることが知られているが、一般的な哺乳類においては傷害時であっても傷害部位の細胞の脱分化や分化転換による組織再生は起こらないとされてきた。近年、遺伝子改変技術の進歩により、特定の細胞の運命追跡が可能となった。その結果、マウスなどの哺乳類においても、組織傷害後の組織修復過程で成熟細胞の脱分化現象や分化転換が起こり、組織修復に関わることが示された。皮膚組織では種々の間質細胞が動員され、組織修復に寄与していることが明らかとなっている。一方で、動員される間質細胞の起源や成熟脂肪細胞の関与について多くは不明である。そこで今回、成熟脂肪細胞の運命追跡が可能で遺伝子改変マウスを用いて傷害モデルとして皮膚全層欠損モデルを作製し、創傷治癒過程における成熟脂肪細胞の形質転換及び組織再生への関与を検討した。

タモキシフェン投与によりアディポネクチン発現細胞特異的に赤色蛍光色素 **tdTomato** を発現する **Adipoq-CreERT2;Rosa26-tdTomato** マウスを作製し、成熟脂肪細胞特異的レポーターマウスとして実験に用いた。このマウスにタモキシフェンを投与後、背部に表皮、真皮、皮膚脂肪層を含む皮膚全層欠損創を作製した。皮膚欠損作製後 0、7、14、21 日目に背部皮膚組織の凍結切片標本を作成し、経時的に組織修復過程を観察した。また組織修復過程で出現する **Perilipin<sup>+</sup> tdTomato<sup>+</sup> fibroblast-like cell (FLC)** 数を定量した。また肉芽組織が発達する皮膚欠損作製後 14 日目の凍結切片標本を各種間質細胞マーカーに対する抗体で蛍光免疫染色し、血管内皮細胞、筋線維芽細胞、ペリサイト、**Reticular fibroblast**、**Pro-adipogenic fibroblast**、**Papillary fibroblast**、増殖性細胞 (**Ki-67<sup>+</sup>** 細胞) の同定と定量を行った。作成した組織切片標本から各種間質細胞数及び **tdTomato<sup>+</sup> FLC** 数、各種間質細胞の形質を示す **tdTomato<sup>+</sup> FLC** 数の合計を計測した。

皮膚欠損作製後 7 日、14 日目において欠損部の肉芽組織に線維芽細胞様形態を示す **Perilipin<sup>+</sup> tdTomato<sup>+</sup> FLC** の出現が多数認められた。**Perilipin<sup>+</sup> tdTomato<sup>+</sup> FLC** は 21 日目には著明に減少し、7 日目及び 14 日目と比較して有意 ( $p < 0.05$ ) に低下していた。皮膚欠損作製後 14 日目の肉芽組織の解析では、**tdTomato<sup>+</sup> FLC** の一部に、ペリサイト (**NG2<sup>+</sup>**)、**Reticular fibroblast (DLK1<sup>+</sup> Sca-1<sup>-</sup>)**、**Pro-adipogenic fibroblast (Sca-1<sup>+</sup> DLK1<sup>+</sup> or<sup>-</sup>)** の形質を示す細胞が認められた。また、**tdTomato<sup>+</sup> FLC** の一部には細胞増殖マーカー **Ki-67** 陽性を示す細胞も確認された。一方、血管内皮細胞 (**CD31<sup>+</sup>**)、筋線維芽細胞 (**ASMA<sup>+</sup>**)、**Papillary fibroblast (CD26<sup>+</sup>)** の形質を示す細胞は検出されなかった。

皮膚全層欠損モデルの組織修復過程において、組織の修復に伴い脂肪細胞由来の線維芽細胞様細胞 (**tdTomato<sup>+</sup> FLC**) が一過性に出現することが明らかとなった。**tdTomato<sup>+</sup> FLC** の一部は、ペリサイト、**Reticular fibroblast**、**Pro-adipogenic fibroblast** の形質を獲得していることが示された。皮膚全層欠損モデルの組織修復過程において、成熟脂肪細胞が脱分化または形質転換し、皮膚組織の修復に関与する可能性が示唆された。