

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Comprehensive analysis of keloid vasculature  
by tissue clearing and 3D imaging

組織透明化および三次元イメージングによる  
ケロイド血管構造の包括的解析

日本医科大学大学院医学研究科 形成再建再生医学分野  
大学院生 Nguyen Dinh Long  
Wound Repair and Regeneration. 2025 Mar-Apr;33(2):e70015.掲載  
DOI: 10.1111/wrr.70015.

ケロイドは、真皮網状層に達する創傷を契機として、局所的な慢性炎症により生じる皮膚の線維増殖性疾患である。ケロイドの発生機序に血管系の関係が示唆されているが、血管構造の特徴として血管ネットワークの発達指摘される一方で、血管数の相対的減少も報告されている。このような背景から、より高精度かつ空間的解像度の高い解析手法による検討が求められていた。

申請者は本研究において、従来の二次元組織学的手法の限界を克服するために、組織透明化法と免疫組織化学を組み合わせた三次元イメージング手法をはじめて導入した。まず、線維化皮膚組織であるケロイド組織に対する組織透明化法の適用可能性を検討する目的で、CUBIC (clear, unobstructed brain imaging cocktails and computational analysis) 法と iDISCO+ (immunolabelling-enabled 3D imaging of solvent-cleared organs) 法という 2 種類の組織透明化プロトコルを比較した。その結果、iDISCO+法は 1 mm および 5 mm 厚のケロイド試料において、より高い透明化性能と明瞭な CD31 免疫蛍光シグナルを示したため、本研究では iDISCO+法を採用した。

次に、iDISCO+法で透明化および CD31 による免疫染色を施したケロイド組織を、ライトシート蛍光顕微鏡 (LSFM) で撮像し、乳頭層から深層網状層にかけての血管ネットワーク全体を可視化した。その結果、特に乳頭層および上部網状層において血管密度が高いことが明らかとなった。さらに、術中に廃棄された胸部、背部、顔面、陰部の 4 部位から採取したケロイドおよび隣接する正常皮膚検体を用いて、乳頭層および網状層の三次元画像を共焦点顕微鏡で取得し、各層における血管構造を視覚的に比較した。その結果、いずれの部位においても、ケロイドでは乳頭層および網状層の両方で、正常皮膚と比較して高い血管密度が観察された。胸部のケロイドおよびその隣接正常皮膚から得られた試料

(n=4) を用いた血管構造の定量解析では、乳頭層においてケロイドの血管密度が正常皮膚の約 1.5 倍であり、またケロイドの上部網状層では血管密度および分岐点数が有意に増加していた。以上より、ケロイド組織では乳頭層および上部網状層を中心に過剰な血管新生が誘導されており、これがケロイドの病態形成に関与している可能性が示唆された。

本研究により、ケロイドにおいて乳頭層および上部網状層に高い血管密度と構造の複雑性が認められることが初めて明らかとなり、これらの領域が血管新生の局在において特に重要である可能性が示された。三次元イメージングにより真皮全体における血管構造の空間的パターンを可視化することが可能となり、ケロイドにおける血管新生の空間的特性やその制御機構に関する新たな示唆が得られた。

第二次審査では、本研究がケロイドにおける三次元血管構造を初めて詳細に解析した新規性の高い論文であることが確認された。また、本研究において明らかとなった血管構造が、血管透過性の亢進や炎症の遷延化に関与している可能性、ケロイドと肥厚性瘢痕の臨床的鑑別、圧迫療法の意義、さらには組織透明化法に関する技術的質問に対しても、申請者は適切に回答した。以上のことから、本研究は新生血管の制御や線維化疾患の臨床応用に資する重要な成果であり、学位論文として十分に価値あるものと認定された。