慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	メカニカルストレスに注目したケロイド新規治療標的の開拓
Sub Title	A novel therapeutics for keloids associated with mechanotransduction.
Author	岡部, 圭介(Okabe, Keisuke)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	ケロイドは皮膚の線維増殖性疾患であり、その発生と増悪にはメカニカルストレスが関与することが知られているが、具体的に関与する遺伝子や分子の詳細は不明である。また、ケロイドには適切な動物モデルが存在しないことも病態解明の障壁となっている。今回、メカニカルストレスを負荷する培養モデル、動物モデルを開発し、実際のケロイド患者組織と比較しつつ、ケロイドの病態と関連するメカニカルストレスの因子を検索するべく研究を行った。培養モデル、動物モデルそれぞれについてマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、変化する遺伝子群を抽出することができた。今後、個々の因子について検証を行う実験を継続する。 Keloids are fibroproliferative diseases of the skin, and mechanical stress is known to be involved in their development and exacerbation, but the specific genes and molecules involved are unknown. Another barrier to elucidating the pathogenesis of keloids is the lack of appropriate animal models. In this study, we developed culture and animal models subjected to mechanical stress and compared them with actual tissues of keloid patients to search for factors of mechanical stress associated with the pathogenesis of keloids. Comprehensive gene expression analysis using microarrays was performed on both the culture and animal models, and a group of genes that were altered were extracted. We will continue experiments to validate the individual factors.
Notes	研究種目 : 基盤研究 (B) (一般) 研究期間 : 2021 ~ 2023 課題番号 : 21H03102 研究分野 : 形成外科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_21H03102seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　 ５ 月 ３１ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：２１Ｈ０３１０２

研究課題名（和文）メカニカルストレスに注目したケロイド新規治療標的の開拓

研究課題名（英文）A novel therapeutics for keloids associated with mechanotransduction.

研究代表者
岡部　圭介（OKABE, Keisuke）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：５０４４５３５０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,100,000円

研究成果の概要（和文）：ケロイドは皮膚の線維増殖性疾患であり、その発生と増悪にはメカニカルストレスが関与することが知られているが、具体的に関与する遺伝子や分子の詳細は不明である。また、ケロイドには適切な動物モデルが存在しないことも病態解明の障壁となっている。今回、メカニカルストレスを負荷する培養モデル、動物モデルを開発し、実際のケロイド患者組織と比較しつつ、ケロイドの病態と関連するメカニカルストレスの因子を検索するべく研究を行った。培養モデル、動物モデルそれぞれについてマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、変化する遺伝子群を抽出することができた。今後、個々の因子について検証を行う実験を継続する。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ケロイドや肥厚性瘢痕に苦しむ患者は膨大な数に及ぶが、それらに対する有効な治療手段は限定的であり、新規治療方法の開発が社会的に求められている。今回、ケロイドの発生と増悪にメカニカルストレスが関与することに着目し、モデルを確立して病態に関与する可能性のある遺伝子を抽出することに成功した。これらの成果を基盤として今後の研究を行うことにより新規治療の開発が可能なると思われる。

研究成果の概要（英文）：Keloids are fibroproliferative diseases of the skin, and mechanical stress is known to be involved in their development and exacerbation, but the specific genes and molecules involved are unknown. Another barrier to elucidating the pathogenesis of keloids is the lack of appropriate animal models. In this study, we developed culture and animal models subjected to mechanical stress and compared them with actual tissues of keloid patients to search for factors of mechanical stress associated with the pathogenesis of keloids. Comprehensive gene expression analysis using microarrays was performed on both the culture and animal models, and a group of genes that were altered were extracted. We will continue experiments to validate the individual factors.

研究分野：形成外科学

キーワード：ケロイド　メカニカルストレス

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

怪我や手術による皮膚損傷後に生じる瘢痕(きずあと)は、直接生命を脅かすものではないが、現代医学、特に皮膚科・形成外科領域における重要な課題である。殊にケロイドは、皮膚や関節のひきつれによる機能障害、痛み・かゆみなどの自覚症状、目立つきずあとによる外観の問題などから、患者の生活の質を著しく低下させる（図 1)。その病態は、創傷治癒に伴う炎症と線維化が長年おさまらず、線維性組織の増殖がつづくものと考えられているが、詳細な原因は不明であり、有効な治療法がほとんど存在しない。以前より、慢性的な牽引などの「力学的な負荷（メカニカルストレス)」がケロイドの発生・増悪因子であることが経験的に知られていたが、それら物理的応力が細胞内シグナルとして伝達される仕組み（「メカノトランスダクション」と呼ばれる）が徐々に解明されつつあり注目されている。ケロイドの病態を忠実に再現することができる動物モデルは存在しないため、ケロイドの研究を進めるためには生体外培養モデル、瘢痕のマウスモデル等を組み合わせ、さらに実際のケロイド患者から得られる情報を統合して研究を進める必要がある。本研究ではそのような事情を考慮し、メカニカルストレスを負荷する培養モデル、動物モデルを新たに開発することとした（図 2)。

図 1. 体幹部重症ケロイドの患者

腹部手術後にケロイドが出現し、30 年で徐々に拡大した。肩関節可動域が著しく制限され、また慢性的な排膿があるため連日の洗浄と軟膏ガーゼによる処置を必要とする。

２．研究の目的

本研究では、ケロイド・肥厚性瘢痕の動物モデル、生体外伸展負荷培養モデル、患者由来組織を用いた網羅的解析を集約して、ケロイドの発生・増悪に関連するメカニカルストレスの分子機構を解明し、そのシグナル伝達を標的とした新規の治療方法を開発するための基盤データを確立することを目的とする。

３．研究の方法

（１） 培養モデルの確立

ケロイドの病態をなるべく忠実に再現するためには三次元の培養が必要と考えられた。そこで、市販の人工真皮製品の中でも比較的弾力性があり張力負荷が可能な Integra (Yannas et al. PNAS 1989)を基質として、Fibronectin のコーティングにより細胞接着を促進させた上で(Sapdom Biomater Sci 2015, Hynes Science 2009)、ヒト皮膚由来の線維芽細胞と血管内皮細胞を播種し(Rosenfeld et al. PNAS 2016)、伸展培養装置（STREX）を用いて、12%伸展、30 回/分の条件（Kuang et al. APS 2016, Rosenfeld et al. PNAS 2016)で培養を行った（図 3)。

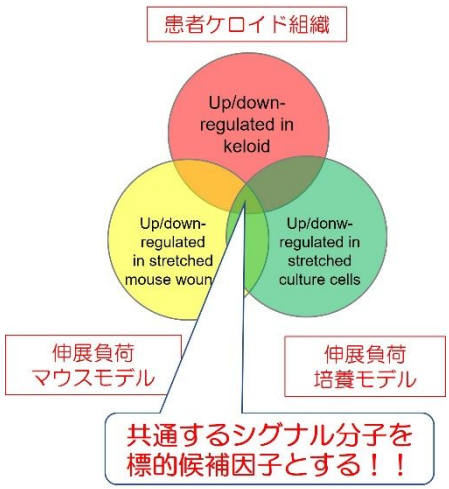


図 2. ケロイド研究の戦略

（２） 動物モデルの確立

メカニカルストレスを創部に負荷するマウスモデルとしては Aarabi らの報告が有名であるが(Aarabi, et al. FASEB J 21:3250-3261, 2007)、再現性が高くないこと、持続的張力よりは反復する張力の方が実情に近いことから、用手的な皮膚牽引を 1 日 1 時間加えるというマウスモデルを考案し実験に用いることとした。

（３） マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析

上記の培養モデルおよび動物モデルから得られた組織より RNA を抽出し、Clariom S（Affimetrix）を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。

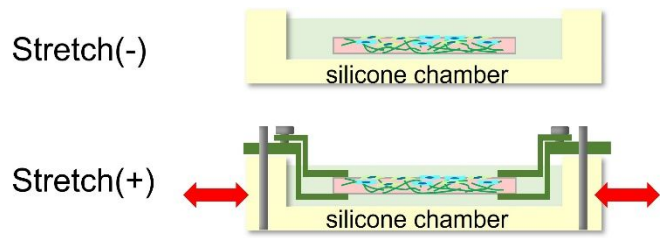


図 3. 三次元伸展培養装置の概略

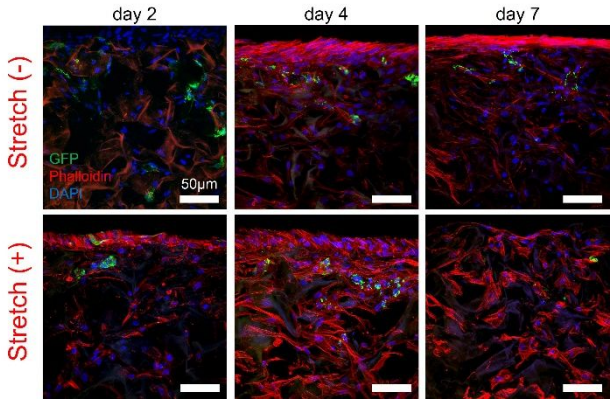


図 4. 三次元伸展培養モデルの組織染色

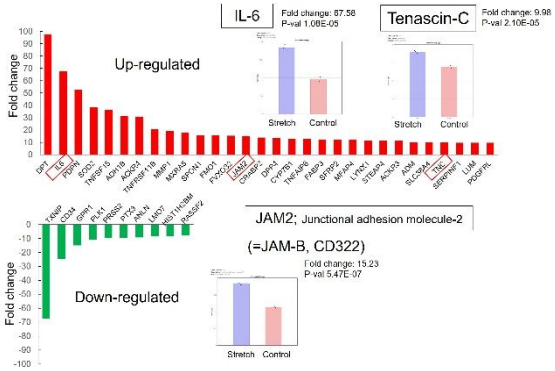


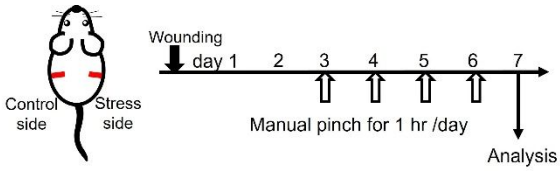
図 5. 三次元伸展培養モデルの網羅的遺伝子解析

４．研究成果

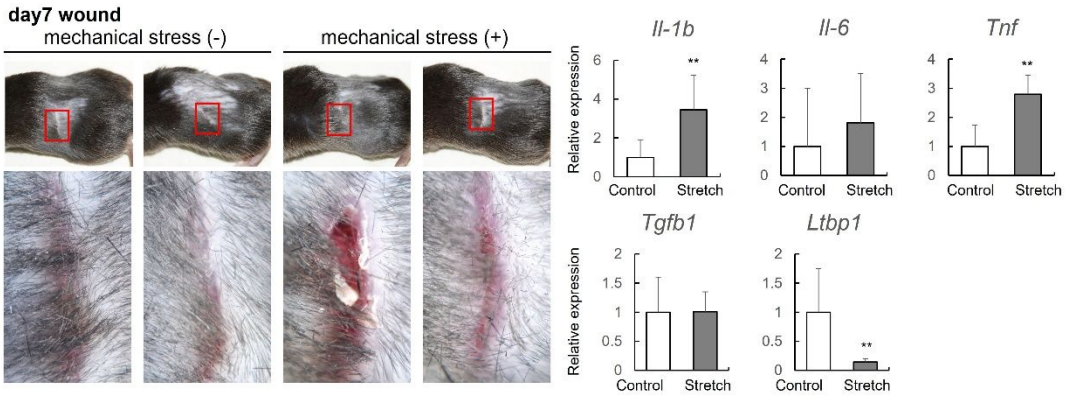
（１） 培養モデルの解析

上記培養モデルの免疫染色を行ったところ、図 4 に示す通り、メカニカルストレスを負荷することによって細胞骨格が著明に変化することが分かり、また RT-PCA の結果から炎症反応に関連する遺伝子をはじめ多くの遺伝子の発現量が変化することが確認された。そこでマイクロアレイを行い網羅的に遺伝子解析を行った。図 5 に代表的なものを提示するが、IL-6 など炎症にかかわる既知の遺伝子のほか、乾癬など皮膚疾患との関連が知られている細胞外マトリックスである Tenascin-C、癌免疫に関与する JAM2 などが大きく変化する遺伝子として抽出された。

（２） 動物モデルの解析



上記の通り、用手的に創部を牽引する動物モデルを考案した。創傷作成後 3 日目より、イソフルレン麻酔科に１日１時間のメカニカルストレスを加え、対照と比較した。



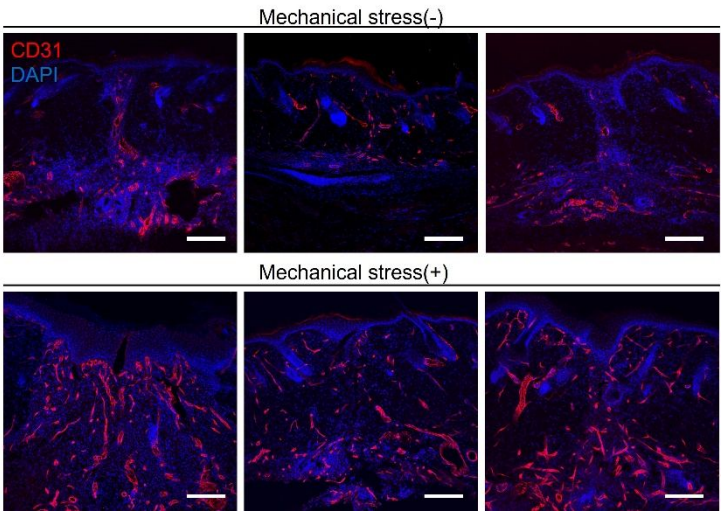


図 6. 動物モデルの解析

すると、図 6 に示す通り、術後 7 日目の時点で、メカニカルストレスを負荷した創は肉眼的に赤く盛り上がった状態となった。RT-PCR を行ったところ、図の通り炎症反応にかかわる遺伝子、TGF-βシグナルに関連する遺伝子が有意に変化することが分かった。また、組織学的に血管新生が亢進することも確認された。

そこで、本モデルについてもマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。培養モデルと同様に、炎症を促進する遺伝子群（特に B 細胞に関連するもの）や、血管新生を促進する遺伝子群の発現増加が著明であった。

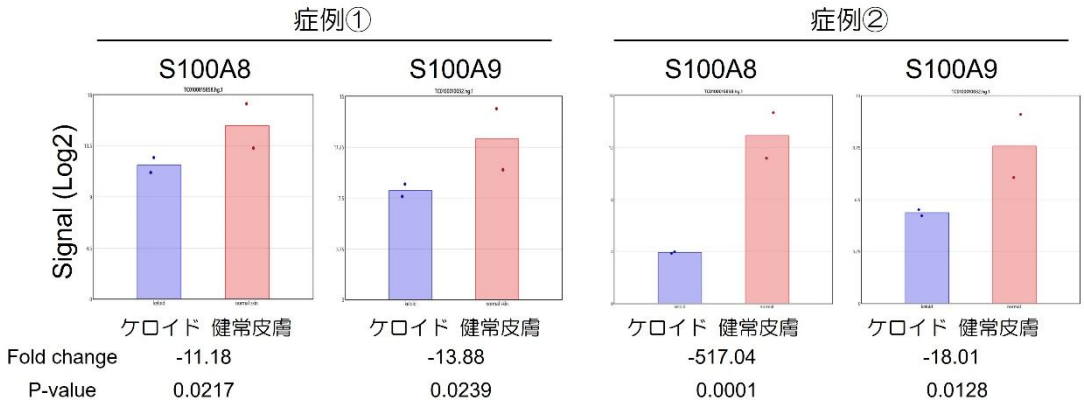


図 7. ケロイドにおいて発現が低下していた S100A8/9

（3） ケロイド患者の解析

ケロイド患者 2 名からも、同意を取得した上で、手術で余剰となったケロイド組織を回収し、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。結果を上記 2 モデルと比較したところ、共通する遺伝子も複数確認されたが、相反する挙動を示した遺伝子も確認された。一例として、S100A8/S100A9 を示す。同分子は damage-associated molecular patterns (DAMPs)の代表と考えられているが、種々の病態において血中等に流出して病勢のマーカーとして利用される他、マクロファージに発現して炎症の開始や収束を司る役割が指摘されている。ケロイド組織においては、周囲正常皮膚と比較してこれらが著明に減少しており、病態との関連が示唆された。動物モデルにおいてはこれらが増加しており、その乖離メカニズムについては不明であるが、今後、動物実験を追加して検討を行っていく予定である。

本研究を通じて、メカニカルストレス負荷によって変化する遺伝子群の基盤となるデータを得ることができた。個々の因子について今後検討することにより、ケロイドの新たな治療戦略開発につながる知見が得られると考えている。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計3件（うち招待講演　0件／うち国際学会　1件）

１．発表者名 岡部圭介
２．発表標題 メカニカルストレスに注目してケロイド新規治療法開発の試み
３．学会等名 第66回日本形成外科学会総会・学術集会
４．発表年 2022年～2023年

１．発表者名 Keisuke Okabe
２．発表標題 Mechanical force in keloid
３．学会等名 The 2nd World Congress of Global Scar Society（国際学会）
４．発表年 2021年～2022年

１．発表者名 岡部圭介
２．発表標題 ケロイドにおけるメカニカルストレス要因の検討
３．学会等名 第65回日本形成外科学会総会・学術集会
４．発表年 2022年～2023年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

―

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関