

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18591973
 研究課題名 (和文) IL-6 シグナル制御によるケロイドの新しい分子治療の確立と発生機序の
 解明
 研究課題名 (英文) Establishment of novel molecular target therapy and determination of
 developmental mechanism of keloid by inhibition of IL-6 signaling.
 研究代表者 土佐 眞美子 (TOSA MAMIKO)
 日本医科大学・医学部・助教
 30301568

研究成果の概要：

ケロイド組織およびケロイド由来線維芽細胞において、IL-6 シグナルの亢進が認められた。正常真皮由来線維芽細胞に、IL-6 を作用させると、細胞外マトリックス関連遺伝子発現が上昇し、コラーゲン合成能も増加した。一方、ケロイド由来線維芽細胞に抗 IL-6 抗体、抗 IL-6R 抗体を作用させると、細胞外マトリックス関連遺伝子発現が減少し、コラーゲン合成能も抑制された。ケロイドにおいて IL-6 シグナルは亢進しており、その結果、コラーゲン合成能が促進し、ケロイド発生に関与している可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：創傷治癒学、ケロイド、IL-6、分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

ケロイドは太古の昔から存在しているが、原因不明であり、形成外科領域の難治性疾患の代表となっている。われわれはケロイド原因遺伝子を解明すべく、分子レベルの研究を行ってきた。その結果、ケロイドにおける IL-6 の過剰発現を明らかにし、ケロイド発生と IL-6 シグナルの関連性を検討すべく本研究を計画、実行した。

2. 研究の目的

ケロイド発生と IL-6 シグナルの関連性を検

討し、IL-6 シグナル制御によりケロイド発生を抑制することが出来るかどうかを本研究期間に明らかにする。ケロイド原因遺伝子の解明および新治療法の確立を最終目的とする。

3. 研究の方法

(1)ケロイドにおける IL-6、IL-6 受容体、gp130 の発現解析、IL-6 シグナル発現解析：ケロイド組織およびケロイド由来線維芽細胞(KF)における発現を RT-PCR 法、Western blot 法、免疫組織学的染色法を用いて検討し、

正常真皮および正常真皮由来線維芽細胞(NF)と比較した。

(2)①IL-6→gp130→STAT3 シグナルと
②IL6→gp130→SHP-2→ERK シグナルに関する遺伝子の発現を RT-PCR 法、Western blot 法により解析した。

(3)ケロイドにおける IL-6 シグナル機能解析: NF に IL-6 を作用させ、細胞生存曲線を作成し、細胞外マトリックス関連遺伝子の発現を RT-PCR 法にて、また、RIA 法を用いてコラーゲン合成能を解析した。
一方、KF に抗体 IL-6 抗体を作用させ、細胞生存曲線を作成し、細胞外マトリックス関連遺伝子の発現を RT-PCR 法にて、また、RIA 法を用いてコラーゲン合成能を解析した。

4. 研究成果

(1)KF は NF と比較して増殖速度が速かった(図 1)。

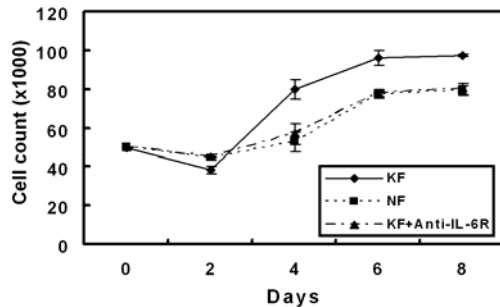


図 1 : KF および NF の細胞増殖能

IL-6 分泌量は KF が 520 ± 40 pg/ml、NF が 80 ± 28 pg/ml で KF で著名に上昇していた(図 2)。

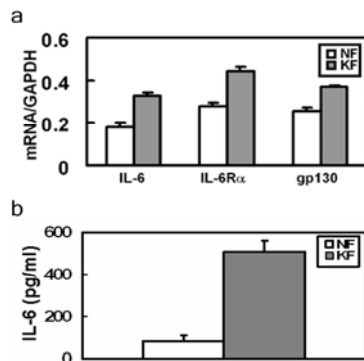


図 2 : KF および NF における IL-6, IL-6-R, gp130 の発現解析

(2)IL-6 シグナル下流の遺伝子発現は、mRNA レベルとタンパクレベルで KF にお

いて増加していた(図 3, 4)。

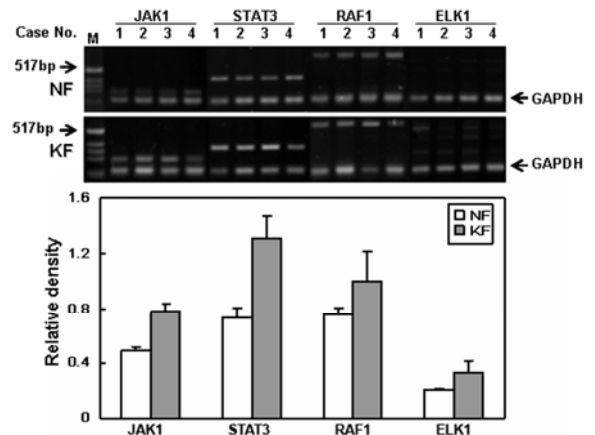


図 3 : IL-6 シグナル下流の遺伝子の mRNA 発現解析

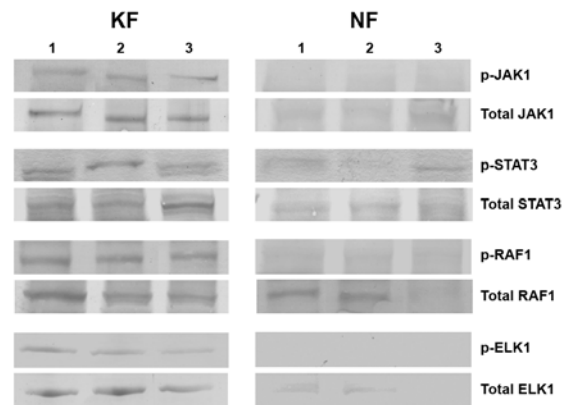


図 4 : IL-6 シグナル下流の遺伝子のタンパク発現解析

(3)NF に IL-6 を作用させるとコラーゲン合成能は増加し、一方、KF に抗 IL-6R 抗体を作用させるとコラーゲン合成能は減少した(図 6)。

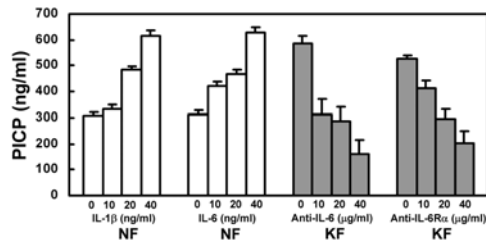


図5：コラーゲン合成能へのIL-6の影響

KFとNFにおけるIL-6シグナル関連遺伝子の免疫組織学的染色ではKFにおいて増加していた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

Mohammad Ghazizadeh, Mamiko Tosa, Hajime Shimizu, Hiko Hyakusoku, Oichi Kawanami: Essential role of signaling pathway in keloid pathogenesis. J Nippon Med Sch 74:11-22, 2007.

Mohammad Ghazizadeh, Mamiko Tosa, Hajime Shimizu, Hiko Hyakusoku, Oichi Kawanami: Functional implications of IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis. J Invest Dermatol 127:98-105, 2007.

[学会発表] (計5件)

Mohammad Ghazizadeh, Mamiko Tosa, Hajime Shimizu, Oichi Kawanami: Autocrine IL-6 growth regulation in keloid fibroblasts. Systems Biology of Disease Conference. 2008, Jun, Boston.

土佐眞美子, ガジザデ・モハマッド, 村上正洋, 百束比古: ケロイドに対する新治療薬としてのヒト化抗ヒトIL-6受容体抗体の臨床応用を目指した基礎研究. 第16回日本形成外科基礎学術集会、2007, 10/11-12, 神戸.

清水 一, 川並汪一, 土佐眞美子: IL-6-mediated autocrine growth regulation in keloid fibroblast. 第59回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2007, 10/27-28, 宮崎.

ガジザデ・モハマッド, 土佐眞美子, 他5名: Activation of IL-6 signal pathway in keloid pathogenesis. 第70回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2006, 10/14-15, 弘前.

土佐眞美子, ガジザデ・モハマッド, 村上正洋, 百束比古: 抗IL-6受容体抗体によるケロイド由来線維芽細胞の増殖抑制効果の検討. 第15回日本形成外科基礎学術集会、2006, 10/12-13, 大宮.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土佐 眞美子 (TOSA MAMIKO)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号: 30301568

(2) 研究分担者

モハマッド・ガジザデ

(MOHAMMAD GHAZIZADEH)

日本医科大学・付置研究所・准教授

研究者番号: 30190979

川並汪一 (KAWANAMI OUCHI)

日本医科大学・付置研究所・教授

研究者番号: 70096973

村上正洋 (MURAKAMI MASAHIRO)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 00239500

(3) 連携研究者