

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09474

研究課題名(和文)ケロイド発生過程における脂肪細胞と線維芽細胞との関連性の解明

研究課題名(英文) Study of the association between adipocytes and fibroblasts for keloid pathogenesis

研究代表者

長尾 宗朝 (Nagao, Munetomo)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00364349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに未分化の線維芽細胞は、前脂肪細胞と呼ばれることが知られている(Alessi MC.et.al. Horm Metab Res,2000ほか)。つまり正常であれば脂肪細胞に置き換わるはずの前駆細胞が、異常な線維芽細胞に形質転換していくことで線維増殖へのスパイラルに陥る、つまりケロイドや肥厚性瘢痕が生じる、といった仮説を立てた。その前駆細胞などの細胞動員に重要な役割を果たしているケモカインに着目し、マウス肥厚性瘢痕モデルを用いてケモカインを標的とした解析を行なった。それにより、新たな肥厚性瘢痕治療の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

いわゆる真性ケロイドは多発性に醜状瘢痕、疼痛、搔痒を伴い、患者は長期的に通院を余儀なくされ、著しくQOLが落ちる。そのため、ケロイドの機序解明、新たな治療法の開発は、そのような患者にとっても切実な願いである。

本研究においては、ケロイドや肥厚性瘢痕の発生過程における線維芽細胞と脂肪細胞の関連性につき、その細胞動員に重要な役割を担っているケモカインに着目して、研究を進めた。肥厚性瘢痕モデルマウスを用いて解析を行ない、新たな肥厚性瘢痕治療の可能性が見出された。

研究成果の概要(英文)：It has been known that undifferentiated fibroblasts are called preadipocytes (Alessi MC.et.al. Horm Metab Res, 2000 et al.). In other words, we hypothesized that progenitor cells, which would normally be replaced by adipocytes, would transform into abnormal fibroblasts, leading to a spiral of fibrotic proliferation, which would result in keloids and hypertrophic scars. We focused on chemokines, which play an important role in the mobilization of progenitor cells and other cells, and conducted a chemokine-targeted analysis using a mouse model of hypertrophic scars. The results suggest the possibility of a new treatment for hypertrophic scars.

研究分野：ケロイド、創傷治癒、血管腫、脈管奇形

キーワード：ケロイド 肥厚性瘢痕 創傷治癒 線維芽細胞 脂肪細胞 ケモカイン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

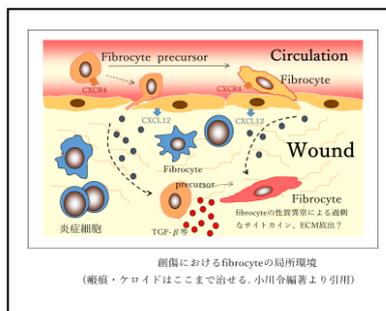
## 1. 研究開始当初の背景

いわゆる真性ケロイドは多発性に醜状癬痕、疼痛、搔痒を伴い、患者は長期的に通院を余儀なくされ、著しく患者 QOL が落ちる。ケロイドの増悪、進展様式に関するメカニズムは、機械的刺激などの研究(Ogawa, R; Wound Repair Regene, 2011 ほか)で徐々に解明されてきている。しかしながら同じような刺激が加わっても増悪する症例からそうでない症例まで様々である。

その違いに関しては、癬痕治癒過程における分子レベルの異常が考えられる。ここで、これまでに未分化の線維芽細胞は、前脂肪細胞と呼ばれることが知られている(Alessi MC. et. al. Horm Metab Res, 2000 ほか)。つまり正常であれば脂肪細胞に置き換わるはずの前駆細胞が、異常な線維芽細胞に形質転換していくことで線維増殖へのスパイラルに陥るのが一つの原因とも考えられる。

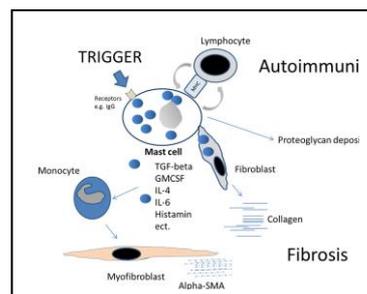
これまでにわれわれは“ケロイド体質“をキーワードとして循環血液中の線維芽細胞前駆細胞、つまり Circulating fibrocytes の研究を行ってきた(右図)。これらの性質異常はケロイドを増悪させる一要因である可能性を突き止めた。

(2011年若手研究B; 研究代表者長尾宗朝)



一方で、これまでに未分化の線維芽細胞は、前脂肪細胞とも呼ばれることが知られて、脂肪細胞と線維芽細胞との相互作用により線維化が進行していく。しかしながらその詳細なメカニズムに関しては、未だ不明な点も多い。そこでわれわれは、脂肪細胞を介したケロイド患者由来の未分化の線維芽細胞をターゲットとすることで、ケロイドの本態である過剰な線維化をコントロールできるのではないかと考えた。

また、その中で前脂肪細胞は、線維芽細胞と同様の形態と増殖能を有することが知られている。それらは適当な分化誘導因子で刺激された細胞が、成熟脂肪細胞へと分化していく。また脂肪細胞と線維芽細胞との相互作用が、線維化を起こすメカニズムの一つとして解明されてきている(Tomas H. Med Inteli, 2014 ほか)。



そのため、脂肪細胞を一つのキーワードとして、ケロイド線維芽細胞との相互作用につき検討を加えることは、一つの病態解明への糸口となる可能性がある。今回われわれは、そのようなケロイド増悪症例に対して、その発生段階つまりケロイド発生過程における脂肪細胞と線維芽細胞との関連性の解明をすべく、実験を計画した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ケロイド線維芽細胞と脂肪細胞との関連性を明らかにすることにより、線維増殖の過程における段階的異常を探究することにある。それにより、さらなるケロイドや肥厚性癬痕などの異常癬痕の発生メカニズムの解明ができ、異常癬痕の発生を未然に防ぐと言った新たな治療選択肢の開発にもつながっていくものと考えた。

そのため、ケロイド線維芽細胞と脂肪細胞との関連性を検証するにあたり、その前駆細胞が局所へ動員されるための重要な鍵となるケモカインに着目した。

ケモカインは、多くの生物化学的プロセスにおいて重要な役割を果たしている。ケモカインネットワークのコントロールが失われると、慢性炎症や血管の異常新生が起こり、創傷治癒の遅延につながる。マクロファージや線維芽細胞の前駆細胞である Blood Borne cell はケモカインによって創傷部位への遊走が制御されていることがわかっており、創傷治癒のみならず、肥厚性癬痕やケロイドなどの増殖性疾患にも深くかかわっている(Granelli-Piperno A et al. J Exp Med. 1996、他)。

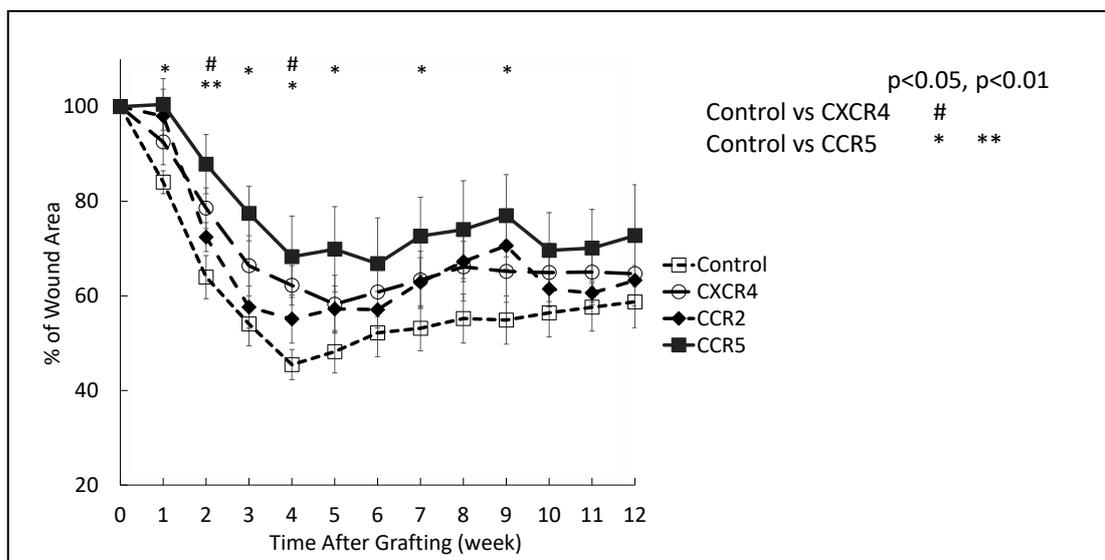
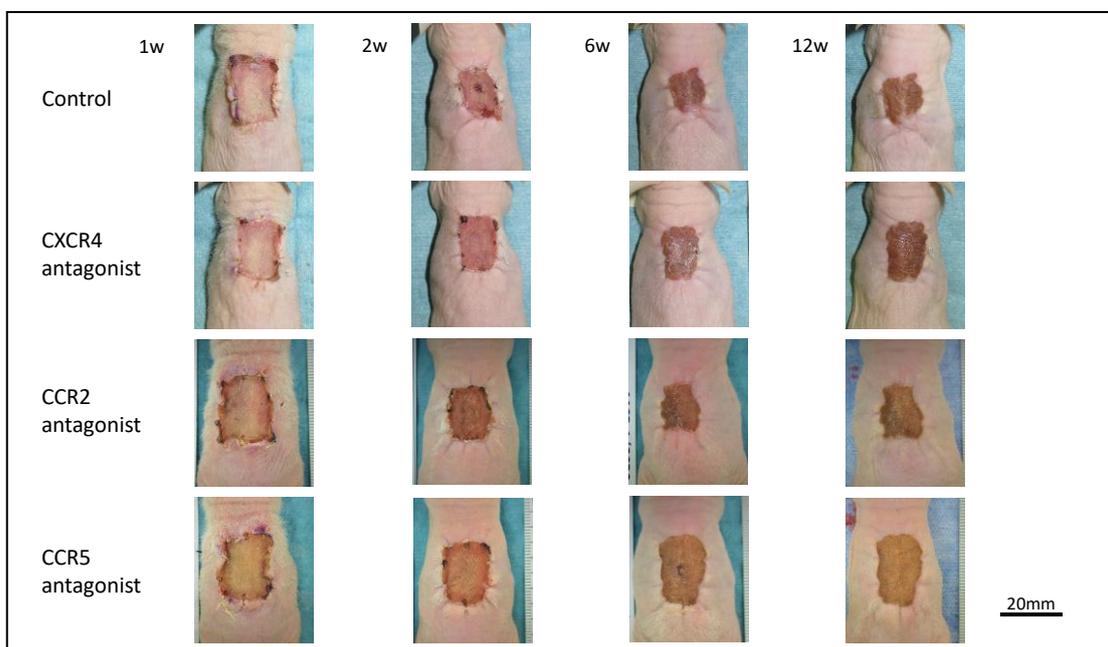
今回、肥厚性癬痕モデルマウスを用いて、ケモカイン経路を遮断したときの癬痕形成の変化などの検証を行なった。

### 3. 研究の方法

- (1) マウス ; オス、Athymic nude mice, Foxn-1 (-/-), 5-7 週、体重 24-25g
- (2) 肥厚性癒痕モデル(Fibrotic nude mouse model)の作成  
Ding J<sup>\*</sup>らの報告に従って、背部に 2.0×1.5cm 大の全層皮膚欠損創を作成し、厚さ 0.03 cm、大きさ 2.0×1.5cm のヒト分層植皮片を創部に移植し、1 週間のタイオーバー固定。
- (3) マウスへのケモカイン受容体拮抗薬(コントロール(PBS)、SDF-1/CXCR4、MCP-1/CCR2、CCL5/CCR5 受容体拮抗薬)を術後 5 日目から 1 週間は連日投与、その後はタイムポイントまで週 1 回投与した。
- (4) 2 週、6 週、12 週時点で、創部縮小率の観察、真皮成分の厚みなどを観察した。また、CD163 や  $\alpha$  SMA の発現をみて、肥厚背癒痕モデルの経過をコントロール群と比較し、ケモカインの効果について検討を行なった。

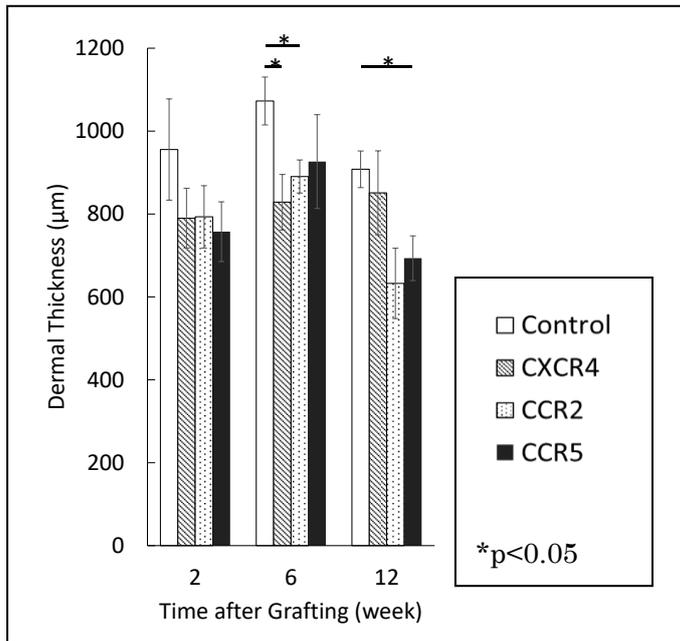
### 4. 研究成果

#### (1) マウス背部の創傷面積の観察



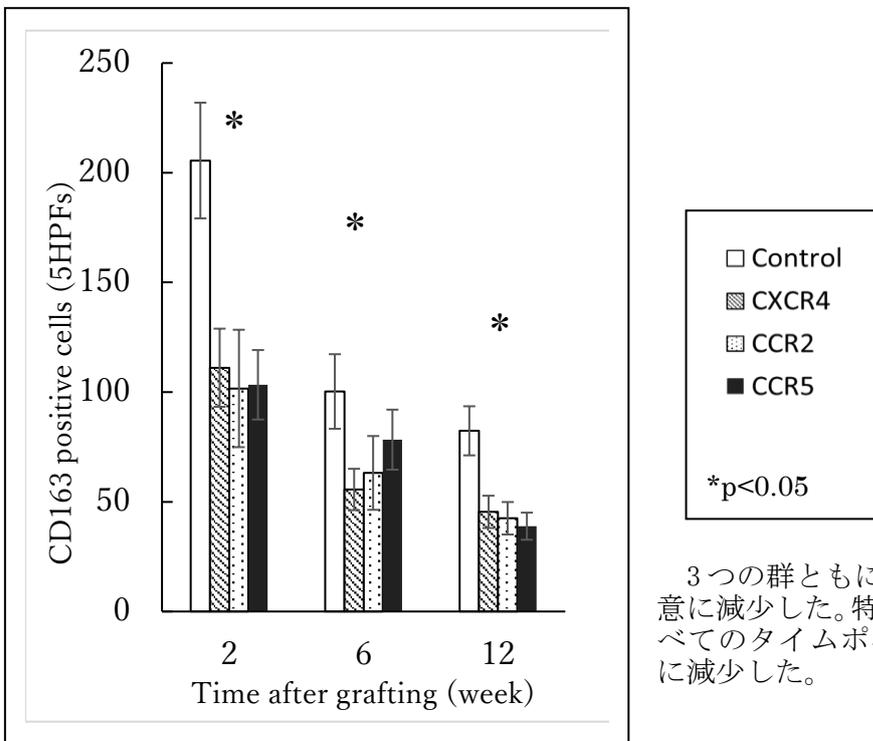
創収縮率において CXCR4、CCR5 遮断群は、コントロール群と比較して、特に早期の癒痕収縮を有意に抑制した。

(2) 真皮成分の厚みの観察

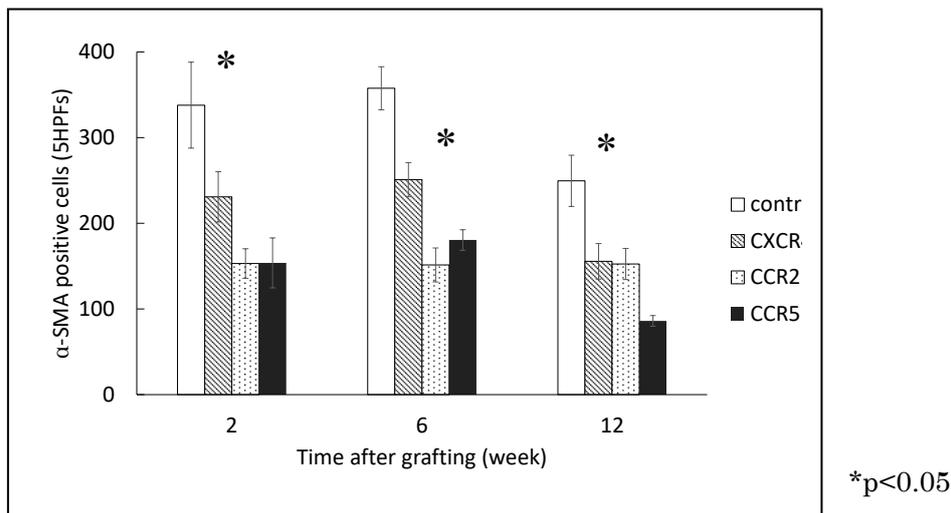


CXCR4 と CCR2 遮断群は 6 週の時点で、CCR5 遮断群は 12 週の時点で真皮成分の肥厚を抑制した。

(3) CD163 や  $\alpha$  SMA の発現



3つの群ともに CD163 陽性細胞が有意に減少した。特に CXCR4 遮断群はすべてのタイムポイントにおいて有意に減少した。



すべての群で  $\alpha$ -SMA 陽性細胞が有意に減少した。

#### (4) まとめ

ケロイド線維芽細胞と脂肪細胞との関連性を検証するにあたり、その前駆細胞が局所へ動員されるための重要な鍵の一つとなるケモカインに着目し研究を進めた。

CCR4、CCR5 遮断群は癒痕の肥厚、収縮を抑制した。特に CXCR4 遮断群はコラーゲン配列もコントロール群と比して、より正常皮膚に近い癒痕を形成した。ケモカイン経路の遮断は肥厚性癒痕形成の抑制に有効であると考えられた。ケモカインを標的とし、線維芽細胞や脂肪細胞が局所へ動員される前段階でブロックするといった治療法の可能性も見いだせた。さらに、完成してしまった異常癒痕に対しての前駆細胞の役割に関しては、さらなる検討が必要と考える。

#### <引用文献>

※ Ding J, Tredget EE. Methods Mol Biol. 2017;1627:65-80

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 OgawaR, AkitaS, AkaishiS, NagaoMetal.	4. 巻 7
2. 論文標題 Diagnosis and Treatment of Keloids and Hypertrophic Scars?Japan Scar Workshop Consensus Document 2018	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Burns & Trauma	6. 最初と最後の頁 7:39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41038-019-0175-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 長尾 宗朝, 三浦 千絵子, 渡部 紀久子, 佐原 玄太, 田中 佑也, 庄司 未樹, 今井 啓道, 館 正弘	4. 巻 13
2. 論文標題 将来を見据えた瘢痕・ケロイド治療に関する臨床研究のアイデアと展望 外科手術手技に伴うケロイド形態の変遷 腹腔鏡下手術の普及と臍ケロイド	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 瘢痕・ケロイド治療ジャーナル	6. 最初と最後の頁 24-28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 遊佐 優, 館 正弘, 相澤 貴之, 梅山 広勝, 佐藤 顕光, 三浦 孝行, 長尾 宗朝, 高木 尚之	4. 巻 62
2. 論文標題 病的肥満治療後の余剰皮膚切除に関する合併症の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 1160-1168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Umeyama Hirokatsu, Ding Jie, Nguyen Antoinette, Elcin Alpat Servet, Silva Josue R, Kwan Peter, Nagao Munetomo, Tachi Masahiro, Tredget Edward E.	4. 巻 5
2. 論文標題 The Roles of SDF-1/CXCR4, MCP-1/CCR2 and CCL5/CCR5 Chemokine Pathway in Hypertrophic Scarring	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Science and Health Research	6. 最初と最後の頁 181~201
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.51505/IJMSHR.2021.5215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Munetomo Nagao
2. 発表標題 The morphological change of keloid formation associated with the transition of the surgical procedure
3. 学会等名 The 2nd Congress of The Asian Pacific Society for Scar Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長尾宗朝
2. 発表標題 将来を見据えた癬痕・ケロイド治療に関する臨床研究のアイデアと展望～当科における臍手術疾患の推移から～
3. 学会等名 第13回癬痕ケロイド治療研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長尾宗朝
2. 発表標題 骨髄炎を伴った坐骨部褥瘡治療における間欠的洗浄機能付き陰圧閉鎖療法 (NPWTi-d) の経験
3. 学会等名 第10回日本創傷外科学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 癬痕・ケロイド治療研究会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 106
3. 書名 ケロイド・肥厚性癬痕 診断、治療指針2018	

〔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
---------	---------