

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：84519

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17010

研究課題名(和文) in vivoケロイドモデルの構築と新規薬剤の開発

研究課題名(英文) New construction of animal model for keloid and investigation in novel drugs

研究代表者

池田 実香 (Ikeda, Mika)

地方独立行政法人神戸市民病院機構神戸市立医療センター中央市民病院(第1診療部、第2診療部、第3診療部)・中央市民病院・医長

研究者番号：20464224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ケロイドは過度な細胞増殖と線維化、炎症が病態の主体となっている。特発性肺線維症の治療薬として2008年に販売されたピリフェニドンがケロイドの治療薬として有用であるかの検証を行った。ピリフェニドンは分子量が185と小さいためケロイド移植動物モデルにピリフェニドン軟膏の塗布を行い、抗HSP47抗体の免疫組織学的染色を行った。塗布後8週において濃度依存性に差が見られた。そこで、ピリフェニドン注射剤を作成し移植ケロイド組織に注入。注入後8週・12週でケロイド組織において発現上昇がみられるいくつかの分子についての遺伝子発現を比較検討した。有為な差は見られず、治療効果は証明されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ケロイドは良性疾患であり、微細な傷から発生し徐々に拡大する進行性の疾患である。その病態ははっきりと分かっていないため、根本的な治療法はまだない。また、ヒト特有の疾患で動物モデルがないため、研究も進みにくい。今回の研究では、ケロイドと病態の一つが類似した肺線維症の治療薬である「ピリフェニドン」がケロイドの治療効果があるかを検証した。今回の研究において、「ピリフェニドン」のケロイドへの治療効果は見つけられなかった。しかし、今回の新しいケロイドモデルを使用した薬剤研究を行うことができたことは、将来的に新しいケロイドの薬剤開発の大きな一歩になる。

研究成果の概要(英文)：The etiology of keloid is mainly the excess cell proliferation, fibrosis and inflammation. Pilifenidon is a drug for idiopathic pulmonary fibrosis was started to sell on 2008 in japan. In this study I researched the effect for keloid of Pilifenidon. The molecular weight of Pilifenidon is small 185, So I researched for the ointment. I made the keloid transplantation animal model, then I used pilifinidon ointment for this animal model. On immunochemistry stain for anti-HSP47 antibody, it is seen the concentration dependent difference on 8 weeks after application. Then I made pilifenidon injection and injected into the transplanted keloid tissue of animal model. 8 and 12 weeks after injection, tissues were compared the difference of the gene expressions of several morecules which increase in keloid tissue. The significant differences were not found between control and pilifenidon injected groups. So it isn't able to conclude the effect of pilifenidon for keloid.

研究分野：形成外科

キーワード：ケロイド 動物モデル ピリフェニドン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ケロイドは、発赤と硬結を呈し、強い搔痒と疼痛、拘縮による進展障害等を引き起こし、良性の皮膚腫瘍に分類されるが、微細な傷から発生、徐々に拡大し、患者の苦痛は大きい疾患である。また、ケロイドはヒト特異的な疾患であり、動物には出来ないためモデル動物の構築はされておらず、病態解明や治療法開発の研究遅延の一因となっている。現在の保存的治療として行われているステロイドの局所注射やステロイド剤貼付は施行時の疼痛や使用時の煩雑さ等がある。また外科的切除には、術後の放射線治療が必須であり、併用しなければ再発と更なる病変の拡大を引き起こす。このように、ケロイド治療は停滞した状態であり、治療をはじめたものの手間対効果が見いだせず、治療を断念し、症状に耐えている患者は多い。このような潜在的な患者をふくめると国内の患者数は統計よりも多いと思われ、簡便で苦痛の少ない新しい治療法が開発されると、その福音は大きいと考えられる。しかし、このような新規薬剤の応用には *in vivo* のケロイドモデルが必須である。このたび、ケロイドモデルの構築がある一定の期間維持することに成功したため、このケロイドモデルを使用して、ピリフェニドン外用研究を行うことになった。

2. 研究の目的

ケロイドは、組織学的特徴として線維芽細胞様細胞の増殖と硝子化したコラーゲンの蓄積、GAG の蓄積が報告されている。その中でもコラーゲンの過剰蓄積が特徴的で、このコラーゲン合成に必須の分子である HSP47 の発現の上昇や組織内での蓄積が報告されており、線維性疾患として位置付けることができる。肺の線維性疾患である特発性肺線維症は、特発性間質性肺炎の中で頻度が高く、原因は明らかになっていないが、内因性・外因性の刺激により障害された肺胞に、線維芽細胞の増殖と細胞外マトリックスの増生による過度な線維化病変が形成される難治で進行性の疾患である。2008 年にピリフェニドン (5-Methyl-1-phenyl-2-pyridone) が治療薬として認可され、肺機能の改善が見られている。In vitro においても TGF- β 存在下でピリフェニドン投与により HSP47 と type I コラーゲンの発現が抑制されることが報告されている。

ケロイドはヒト特有の疾患であり、確立したモデル動物がないため病態の解明や新規薬剤の開発が遅れているが、申請者のグループが確立したケロイド移植動物に、ピリフェニドンを投与することで、移植ケロイドが非投与群と比べてコラーゲンや HSP47 の発現や蓄積の変化をみることで、ケロイドの新規薬剤としてのピリフェニドンの有効性を検証する。

3. 研究の方法

実験 I

1. ケロイド組織を免疫不全動物に移植。1 週間にて生着を確認。
2. ピリフェニドン粉末をワセリンに溶解し、0%、5%、10%、50%に精製し、移植部位に塗布し、フィルムによる occlusive dressing を行う。
3. 薬剤投与後 4 週、8 週でサンプリングし、抗 HSP47 抗体で染色。塗布部位の 3 カ所を pick up し、投与濃度による染色性を比較検証

実験 II

1. ケロイド組織を免疫不全動物に移植。1 週間にて生着を確認。
2. ピリフェニドン粉末を DMSO に溶解し、さらに生理食塩水に溶解して 0%、5%に精製し、それぞれ 3 検体ずつの移植組織に注入。
3. 薬剤投与より 6 週と 12 週でサンプリングし、RNA を採取。real-time PCR により、ケロイド組織において発現の上昇が報告されている HSP47・type I コラーゲン・type III コラーゲン・Versican・HtrA1 の発現を投与薬剤の濃度により比較。

4. 研究成果

実験 I におけるピリフェニドン軟膏の occlusive dressing による抗 HSP47 抗体免疫組織学的染色における比較では、薬剤塗布後 4 週では、染色の相違は濃度別に違いは見られなかった。薬剤投与後 8 週においては、抽出した 3 部位において、濃度依存的に HSP47 抗体による染色性が減じている像がみられた。

実験 II において、ピリフェニドン溶液の移植ケロイドへ投与を濃度別に行い、ケロイド組織において遺伝子発現の上昇している HSP47・type I コラーゲン・type III コラーゲン・Versican・HtrA1 の遺伝子発現を比較した。移植検体によるばらつきがあり、濃度に依存した差が見られなかった。実験 II において、遺伝子発現の有意な差がみられなかったため、本研究においてピリフェニドンのケロイドへの治療効果は明らかにされなかった。薬剤投与方法や濃度を変えて、さらなる研究が必要であると思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----