

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10035

研究課題名(和文)ケロイド・肥厚性瘢痕における新規ヒアルロン酸分解酵素の関与

研究課題名(英文)Role of KIAA1199 in keloid and hypertrophic scar

研究代表者

荒牧 典子 (ARAMAKI, Noriko)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：80365311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、ヒトの瘢痕やケロイド組織を用いたKIAA1199の発現検討を行い、ケロイドや瘢痕におけるKIAA1199の役割を検討することを目的とした。今回の我々の結果から、ケロイドではKIAA1199の発現が上昇しており、ヒアルロン代謝が亢進していることが示唆された。またノックアウトマウスの瘢痕抑制効果が見られたことからKIAA1199がヒアルロン酸代謝を介して、瘢痕形成に関与している可能性が示唆され、KIAA1199の発現コントロールがケロイド・瘢痕形成の抑制に応用できることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、2013年にヒアルロン酸分解に関与する新たな分子であることが報告されたKIAA1199が、瘢痕形成やケロイドにおいてどのような意義をもたらすのかを検討した。これまで、生体内のヒアルロン酸の分解には、ヒアルロン酸受容体(CD44)やヒアルロン酸分解酵素などの分子が重要な役割を果たすことが報告されているが、これらの系を介さない新たなヒアルロン酸分解を司るKIAA1199分子が報告された。そこで我々は、ヒトの瘢痕やケロイド組織を用いたKIAA1199の発現検討を並行して行い、ケロイドや瘢痕におけるKIAA1199の役割を検討を初めて検証した。

研究成果の概要(英文)：We aimed to investigate the role of KIAA1199 in keloids and scars by examining its expression in human scars and keloid tissues. Our results suggest that KIAA1199 expression is upregulated in keloids, suggesting that KIAA1199 promotes hyaluronic acid metabolism. In addition, scar formation was suppressed in knockout mice. Thus, KIAA1199 is involved in scar formation via hyaluronan metabolism, and regulation of KIAA1199 expression may be applied to suppress keloid scar formation.

研究分野：ケロイド・瘢痕

キーワード：scarless wound healing 瘢痕 ヒアルロン酸分解酵素 KIAA1199

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生体におけるヒアルロン酸は、皮膚真皮や軟骨に多く存在することが知られ、ヒアルロン酸の産生・代謝は、生体内で重要な役割を果たしていると考えられている。皮膚では、胎仔創傷治癒過程の scarless wound healing の一因として、高濃度のヒアルロン酸の存在が報告されている (Kishi K. et al. *Keio J Med.* 2012)。また通常マウスと同じ大きさでありながら、長寿であり、がん化耐性の能力を持っているハダカデバネズミは、ヒアルロン酸が沈着していることがその理由との報告もなされており (Tian X. et al. *Nature.* 2013)、ヒアルロン酸の産生・代謝は大きな注目を集めている。これまで、生体内のヒアルロン酸の分解には、ヒアルロン酸受容体 (CD44) やヒアルロン酸分解酵素 (hyaluronidase:HYAL1-3) などの分子が重要な役割を果たすことが報告されているが、ヒト線維芽細胞を用いた実験系で、KIAA1199 遺伝子を抑制したところ、ヒアルロン酸分解が著明に低下し、この低下はこれまで知られていた HYAL とは無関係に起こることが報告された (Yoshida H. et al. *PNAS.* 2013: 図 1)。KIAA1199 は、もともと内耳で高発現し、非症候性先天性難聴患者で遺伝子変異が報告された遺伝子である (Abe S. et al. *J Hum Genet.* 2003)。ヒトの線維芽細胞のみならずヒト正常皮膚組織でその発現が認められ、KIAA1199 分子は HYAL などの他のたんぱく質とのアミノ酸配列の相同性を示さず (Csoka A.B. et al. *Matrix Biol.* 2001)、様々な分子量のヒアルロン酸と特異的に結合する (Yoshida H. et al. *FASEB Open Bio.* 2014)。KIAA1199 の疾病への関わりとして、ヒト関節液中のヒアルロン酸分解を担い、関節リウマチ患者の滑膜細胞や滑膜組織では健常人に比べ KIAA1199 の発現が亢進しているという報告 (Yoshida H. et al. *PNAS.* 2013) や、胃がんや大腸がんでの高発現が報告されている (Matsuzaki S. et al. *Ann Surg Oncol.* 2009, Birkenkamp-Demtroder K. et al. *Br J Cancer.* 2011)。しかし、胎仔創傷治癒過程や癬痕などの病的状態において、その発現がどのように変化し、機能を持つか否かの報告はこれまでない。



図 1 KIAA1199 のヒアルロン酸分解

### 2. 研究の目的

本研究では、KIAA1199 が、癬痕形成やケロイドにおいてどのような意義をもたらすのかを検討する。これまで、生体内のヒアルロン酸の分解には、ヒアルロン酸受容体 (CD44) やヒアルロン酸分解酵素 (hyaluronidase:HYAL1-3) などの分子が重要な役割を果たすことが報告されているが、これらの系を介さない新たなヒアルロン酸分解を司る KIAA1199 分子が報告された (Yoshida H. et al. *PNAS.* 2013)。そこで我々は、ヒトの癬痕やケロイド組織を用いた KIAA1199 の発現検討を行い、並行して KIAA1199 ノックアウトマウスを用い、創傷治癒過程を検討することで、ケロイドや癬痕における KIAA1199 の役割を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) ケロイド・肥厚性癬痕における KIAA1199 の発現解析

ヒト癬痕やケロイドにおける KIAA1199 との関わりを検討するため、慶應義塾大学医学部倫理委員会承認の上、採取したヒト癬痕、ケロイド組織における KIAA1199、HAS (hyaluronan synthase) -1, 2 の発現を real time PCR 法にて発現検討を行った。 $\Delta\Delta CT$  法にて解析を行い、同一検体の辺縁正常部を 1 とし病変部での発現量を検討した。またパラフィン切片における KIAA1199 の免疫染色を行った。

(2) KIAA1199KO マウス癬痕における KIAA1199 の役割比較

生後 8 週齢のオス KIAAKO マウスと WT マウスの背部皮膚を除毛後、左右に直径 5mm の全層皮膚欠損を作成し、フィルム保護し湿潤環境で創傷治癒過程を観察した。創傷作成日を day0 として上皮化完了した Day14 における両群の切片を Hematoxin-Eosin(HE) 染色、Masson trichrome(MT)染色、Elastica van Gieson(EVG) 染色を用い、癬痕について評価した。また、定量的な癬痕評価を行うため、Manchester scar scale を一部修正したスコアリング方法 (表 1) を用いて、day14 の MT 染色の切片を用いて癬痕評価をおこなった。

4. 研究成果

(1) ケロイド・肥厚性癬痕における KIAA1199 の発現解析

13 例中 10 例でケロイド病変部ではその発現の上昇を認めた(図 2)。また、発現上昇の認められなかった 3 例でも年齢・性別・部位の近い他者の正常皮膚を 1 としたところ 3 例とも発現の上昇を認めた (図 3)。これらの結果から、ケロイド体質の患者では元々 KIAA が高いあるいは辺縁正常皮膚にも既に発生の要因があるといったことも予想された。

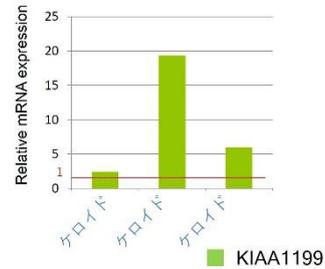
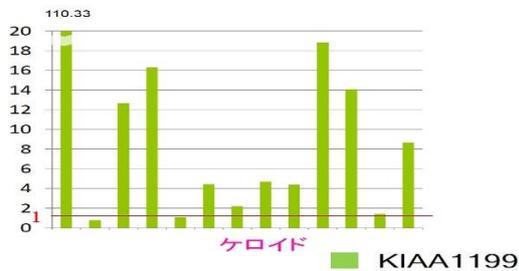


図 2 ケロイド病変部における KIAA1199 の発現

図 3 ケロイド病変部と他者皮膚の比較

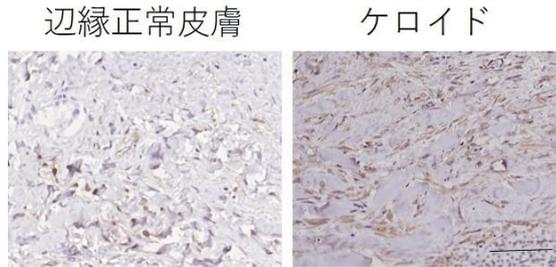
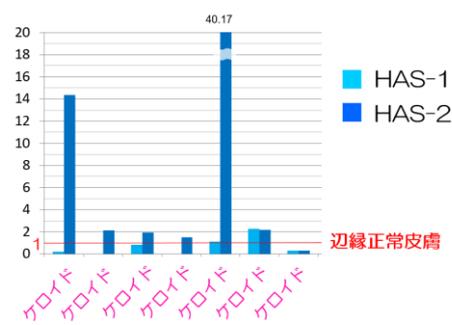


図 4 HAS-1,2 の発現

図 5 ケロイドにおける KIAA の発現

ケロイド組織における免疫染色結果では、辺縁正常皮膚に比べケロイドで陽性細胞数の増加が認められた (図 5)。

(2) KIAA1199KO マウスにおける癬痕形成の検討

創傷治癒の Day14 の癬痕を Modified Manchester Scar Scale で評価した結果、KIAAKO マウスでは WT マウスに比べ、スコアが低く、癬痕が正常部に近い状態であることが示された。また、MT 染色での比較では、WT マウスに比べ、KIAAKO マウスでは癬痕における細胞数が少なく、膠原線維の配列が正常に近い傾向であった。EVG 染色では、KIAAKO マウスでは一部に紫黒色に染色さ

れた弾性線維が認められたのに対し、WT マウスでは弾性線維の出現が認められなかった。また赤色に染色された膠原線維は、WT マウスでは平行に走行している傾向であるのに比べ KIAAKO マウスでは、蛇行して走行している傾向であった。

以上の結果より、ケロイドでは KIAA1199 の発現が上昇しており、ヒアルロン代謝が亢進していることが示唆された。またノックアウトマウスの癒痕抑制効果が見られたことから KIAA1199 がヒアルロン酸代謝を介して、癒痕形成に関与している可能性が示唆され、KIAA1199 の発現コントロールがケロイド・癒痕形成の抑制に応用できることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 荒牧典子、福尾佳奈、酒井成貴、岡部圭介、吉田浩之、下田将之、岡田保典、貴志和生
2. 発表標題 ヒアルロン酸分解酵素（HYBID）欠損マウスにおける創傷治癒解析
3. 学会等名 第51回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2021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
研究分担者	岡部 圭介  (OKABE Keisuke)  (50445350)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師    (32612)	

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
---------	---------