

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18914

研究課題名（和文）創傷治癒におけるIL-11/JAK/STAT3 axisを介した新規治療の開拓

研究課題名（英文）Development of novel therapies mediated by IL-11/JAK/STAT3 axis in wound healing

研究代表者

加藤 達也 (kato, tatsuya)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：60641321

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：癒痕に反復する張力などのメカニカルストレスが加わると癒痕は肥厚し、患者QOLを著しく低下させる。心筋梗塞後の心臓の線維化にIL11が主要な役割を呈することがわかっており、皮膚癒痕においてもIL-11の発現が増加することが分かった。メカニカルストレスを負荷することで癒痕における血管新生が増加し、それにIL11が何らかの影響を与える可能性が示唆された。生体内でのIL-11の影響を確認するためマウスの体内にIL11を投与したが癒痕には明らかな影響は確認できなかった。さらにケロイド患者由来の癒痕組織においてもIL11発現の増加は確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋梗塞後の心筋線維化にIL11が影響するのと同様に、皮膚癒痕においてIL11が影響を与える可能性が示唆された。メカニカルストレスによって癒痕が増大するメカニズムに、IL11が血管新生を介してその一端を担っている可能性が示唆された。皮膚癒痕は悪化すると顕著に患者QOLを損なうが、現在ステロイド投与などの対症療法が主となっている。IL11がケロイド・肥厚性癒痕の治療の標的となる可能性が示唆され今後この解明がさらに進めば、全く新しい治療方法の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Mechanical stresses such as repetitive tension on the scar can cause scar thickening and significantly reduce patient quality of life. It has been shown that IL11 plays a major role in cardiac fibrosis after myocardial infarction, and IL-11 expression is also increased in skin scars. It was suggested that IL-11 may have some effect on the increase of angiogenesis in scars after mechanical stress. In order to confirm the effect of IL-11 in vivo, they administered IL-11 into the body of mice, but no obvious effect was observed in the scars. Furthermore, no increase in IL11 expression was observed in scar tissue from keloid patients.

研究分野：形成外科学

キーワード：肥厚性癒痕 メカニカルストレス IL-11

1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめ、哺乳類の皮膚はいったんある程度以上の損傷を受けると、瘢痕が必ず形成される。瘢痕は肥厚するとケロイドや肥厚性瘢痕と呼ばれ、生命には直接関わらないものの、患者の生活の quality を著しく低下させる。病変部位においては炎症反応が亢進していることが知られ、それに対して 1970 年代から経験的にステロイドや免疫抑制薬、場合により抗がん剤の投与などが行われ、一定の効果を挙げてきた。しかし、ひとくちに炎症といってもその詳細は依然として不明である。近年、「メカニカルストレス」が皮膚の瘢痕形成に関連する分子基盤が明らかとなりつつある。皮膚の創傷治癒過程において、反復する張力などのメカニカルストレスが加わると、その後に生じる瘢痕が目立つものになりやすいことは形成外科領域では古くから経験的に知られ、それを予防するためにテーピングを行ったり装具を装着して刺激を避けたりするような治療が行われてきた。炎症性サイトカインの一種である IL-11 が心筋梗塞後の心臓の線維化に主要な役割を果たすことが報告され、皮膚の線維増殖疾患でもあるケロイドにおいても重要な役割を果たす可能性が示唆された。IL-11 が皮膚の創傷治癒に与える影響と、メカニカルストレスと IL-11 シグナルとの関連の一端が解明できればケロイドや肥厚性瘢痕を予防し得る新規の治療方法の開発が可能になると考えたことがこの研究の始まりである。

2. 研究の目的

申請者らは予備実験の結果、創傷部において IL-11 の生産が増加し IL-11 受容体が線維芽細胞及び浸潤するマクロファージにおいて発現することがわかっており、さらにメカニカルストレスが創部に与える影響を、IL-11 を含むシグナル伝達のメカニズムを解明することで明らかにする。この研究によってケロイド増悪のメカニズムが解明されれば現行の治療法に取って変わる新たな分子標的療法開発の足掛かりとなる可能性がある。

3. 研究の方法

メカニカルストレスが創傷に与える影響を、モデルマウスを使用して検討した。メカニカルストレスのモデルマウスは C57Bl/6J マウス (オス、8 週齢) の背部の左右 2 か所に全層皮膚切開層を作成した。創部に 1 日 30 分間用手的にマッサージを行うことでメカニカルストレスとし、メカニカルストレス群とコントロール群を免疫組織学的、及び分子生物学的に解析を行った (図 1)。

メカニカルストレスと IL-11 の関連をさらに検討するため、in vitro での検討を追加で行った。伸展培養装置を使用して、血管内皮細胞とヒト皮膚線維芽細胞を共培養・伸展負荷を行いメカニカルストレスの影響を確認した。さらに in vivo での動向を検討した。C57Bl/6J マウス (オス、8 週齢) の背部に全層皮膚切開創を作成し、そのマウス皮下に浸透圧ポンプ (alzet) を挿入し、recombinant IL-11 を投与、抗 IL-11RA (受容体 α 鎖) 抗体を投与、コントロール (PBS) 投与し創傷に与える影響を免疫組織学的に検討した。実際にケロイド患者由来組織でも IL-11 の発現について確認を行った。

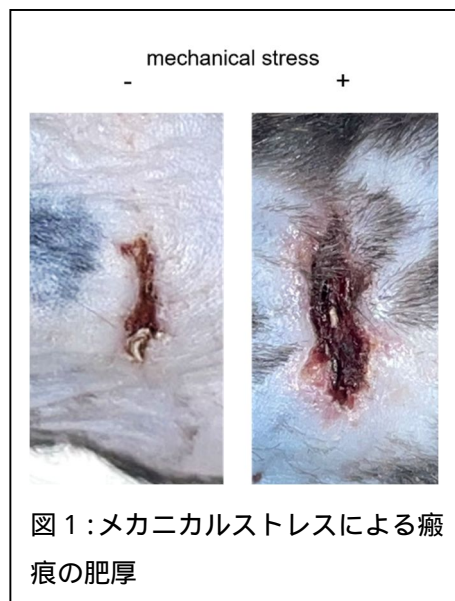


図 1:メカニカルストレスによる瘢痕の肥厚

4. 研究成果

(1) メカニカルストレス負荷モデルマウスにおける検討

メカニカルストレスを負荷したモデルマウスを使用して免疫組織学的及び分子生物学的に解析を行った(図2)。定量PCRの結果、メカニカルストレスによってIL-11の発現の上昇が認められた。その他炎症性サイトカインであるTGFβについては有意差を認めなかった。さらに免疫組織学的に新生血管(CD31陽性)と炎症細胞(CD11b陽性細胞:好中球、Iba1陽性細胞:マクロファージ)をメカニカルストレス群とコントロール群で比較を行った(図3・4)。ImageJ(NIH)を使用しそれぞれの癒痕周囲にある陽性細胞の占める面積を割り出した。新生血管(CD31陽性)の占める割合はコントロール群に比べ有意差をもって上昇がみられた。好中球(CD11b陽性)、マクロファージ(Iba1陽性)については、有意差はないものの、メカニカルストレスによって増加する傾向が見られた。メカニカルストレスによってこの結果よりメカニカルストレスによって血管新生が惹起され炎症細胞浸潤も引き起こされると考えられる。IL-11がこの血管新生に何等かの影響を与えることが予想され、同様に免疫組織学的に確認したが、現在までに新生血管とIL-11との関連は明らかになっていない。

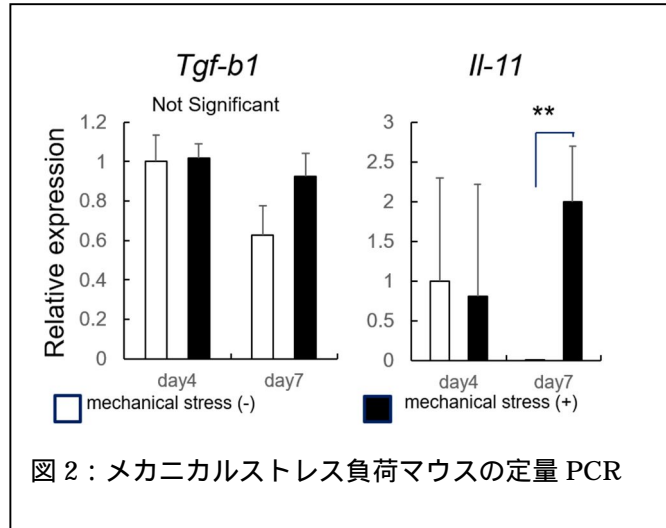


図2: メカニカルストレス負荷マウスの定量PCR

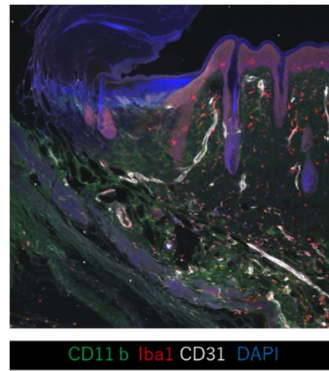


図3: メカニカルストレスによる癒痕周囲の新生血管及び炎症細胞の浸潤

(2) in vitroでのIL-11の動向

メカニカルストレスによるIL-11の動向を確認するため伸展培養装置を使用したin vitroでの検討を行った。ヒト血管内皮細胞とケロイド患者由来線維芽細胞を人工真皮上で三次元共培養し伸展負荷を行った。その結果においてIL-11及びIL-11受容体発現について有意な差を認めることが出来なかった(図4)。さらに今後、ケロイド患者由来線維芽細胞を培養しIL-11負荷による影響を検討する方針である。

(3) in vivoでのIL-11の動向

続いてin vivoでのIL-11の動向について検討を行った。C57Bl/6Jマウス(オス、8週齢)の背部に切開創を作成し、そこから浸透圧ポンプを挿入した。連日recombinant IL-11を投与、抗IL-11RA(受容体α鎖)抗体を投与、コントロール(PBS)投与を行い、免疫組織学的に検討を行った。しかし免疫組織学的に投与による癒痕について有意な差を見出すことが出来なかった。

また患者のケロイド組織において、IL-11の発現を定量PCRにて確認したが、同様に有意差を確認できなかった

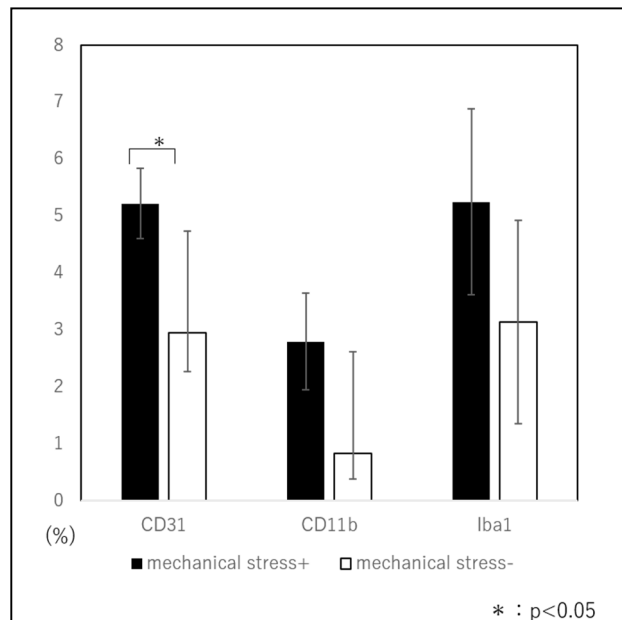
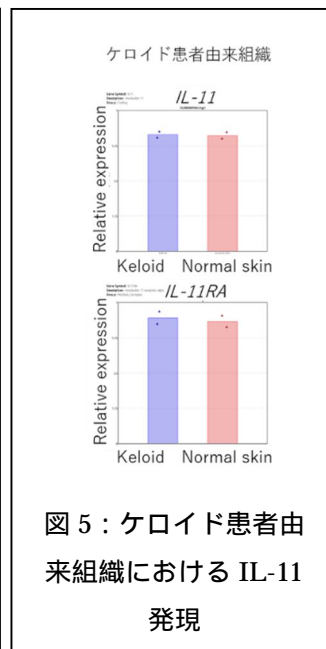
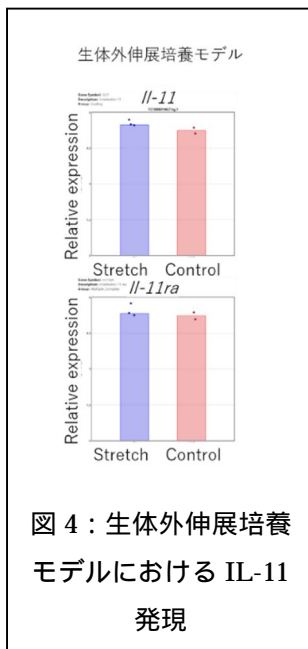


図3: メカニカルストレスによる新生血管・炎症の変化

メカニカルストレスにより血管新生及び炎症細胞が占める割合が上昇する。

(図5) 今回の実験結果より、メカニカルストレスによりIL-11の発現が増大し、血管新生が惹起される可能性が示唆された。今後 in vivo においてはIL-11の創傷における影響は判明しなかったが、血管新生とIL-11の関係がより詳細に解明できれば創傷治癒における新規治療標的になりうると考える。



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

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