

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18419

研究課題名（和文）ケロイド・肥厚性瘢痕組織におけるYAP/TAZ signalingの検証

研究課題名（英文）The role of YAP/TAZ signaling in Keloid and hypertrophic scars

研究代表者

伊倉 直彦（IKURA, Naohiko）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：10867758

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトケロイド組織において、辺縁の正常皮膚に比べ、病変内の線維芽細胞でYAP/TAZの核内移行率が有意に上昇していた一方で、血管内皮細胞や表皮細胞では核内移行率に有意な差は認められなかったため、ケロイド組織における硬さのシグナルは線維芽細胞が関与している可能性が示唆された。また、マウス背部瘢痕モデルにおいては、ヒト組織の結果と同じく、線維芽細胞におけるYAP/TAZの核内移行率がコントロール群に比べ、高かった。今後YAP/TAZの核内移行阻害薬などを用い、治療に応用できる可能性を検討して行く予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ケロイド組織やマウス瘢痕モデルでも線維芽細胞におけるYAP/TAZの核内移行が認められたことから、持続する炎症や病変拡大に線維芽細胞のYAP/TAZシグナルが関与している可能性が示唆され、また核内移行阻害薬を用いることでケロイド治療に発展する可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：In human keloid tissue, the nuclear translocation rate of YAP / TAZ was significantly increased in lesion fibroblasts compared to normal skin at the margin, whereas the nuclear translocation rate was no significant difference in vascular endothelial cells and in epidermal cells. These data suggested that fibroblasts may be involved in the keloid tissue hardness signal. Furthermore, in the mouse back scar model, the nuclear translocation rate of YAP / TAZ in fibroblasts was higher than that of the control group, similar to the result of human tissue. In the future, we plan to investigate the possibility of application to treatment with YAP / TAZ nuclear translocation inhibitors.

研究分野：創傷治癒

キーワード：YAP TAZ ケロイド

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ケロイドは張力のかかる部位が好発部位とされ、機械的シグナルがケロイド病変形成に関与している可能性が報告されている。近年、Yorkie のホモログである YAP(Yes-associated protein)と TAZ(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif)が細胞外マトリックスの硬さ及び細胞形状によって伝えられる機械的シグナルを核へ送る伝達装置であることが報告された(Dupont S. et al. Nature 2011)。以降、また、ヒトの種々のがんで、Hippo pathway の機能低下、YAP/TAZ の高発現が高頻度に認められ、かつ YAP/TAZ の活性上昇はがん細胞の間葉細胞化、幹細胞化を起こして臨床予後を悪化させることが報告されている(Hao et al. J Cell Physiol. 2013)。間葉系幹細胞や癌細胞の制御に関与するなどの報告がされ、また 2017 年にケロイドにおいて辺縁正常皮膚に比べ YAP/TAZ が核内移行し、活性化されていることが報告されたが (Aramaki-Hattori. et al. Plast Reconstr Surg Glob Open.)、ケロイドの病態形成についての詳細は検討されていない。

2. 研究の目的

そこで本研究は、ケロイド組織における YAP/TAZ の検討を行い、ケロイドの病態形成に YAP/TAZ が関与する機械的シグナルが関与している可能性を検討し、そのシグナルを阻害することで将来的な治療への応用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1)ケロイド組織における YAP/TAZ の核内移行の検討

手術検体から得られたケロイド組織を用いて、YAP/TAZ の組織内における検討を行った (倫理委員会承認：20120477)。

(2)周囲の硬さによるケロイド由来及び正常皮膚由来の線維芽細胞の YAP/TAZ の核内移行の検討

ケロイド由来及び正常皮膚由来の線維芽細胞 (1-2 継代目を使用) を硬さの異なるポリアクリルアミドゲル (Pelham RJ et al. Proc Natl Acad Sci. 1997) を用いて 3 次元培養し、YAP/TAZ の核内移行を免疫染色法にて検討する。硬さによる変化及びケロイド由来と正常皮膚由来での違いを比較検討する。悪性中皮腫では YAP の恒常的活性化によりその標的遺伝子の 1 つである CTGF の転写亢進が報告されていることから、その発現も検討する。

(3)ケロイド組織及び正常皮膚組織のタンパクにおける SHP2, RAS-MAPK 経路, Wnt 経路分子及びリン酸化の発現検討

ケロイド組織及び正常皮膚組織のタンパクを抽出し、ウェスタンブロット法にて、関連分子の発現及びリン酸化を比較検討する。また 2) の 3 次元培養下で培養した線維芽細胞 (ケロイド由来及び正常皮膚由来) からのタンパクを抽出し、関連分子の発現及びリン酸化を検討し、組織と細胞間での違いや硬さの違いにおけるシグナル伝達系を比較・検討する。

(4) マウス肥厚性瘢痕モデルにおける SHP2, RAS-MAPK 経路, Wnt 経路分子及びリン酸化の発現検討

マウス背部皮膚に広範な皮膚欠損を作成したのちに、創治癒した瘢痕モデルを用いて、瘢痕形成過程における YAP/TAZ の活性化・核内移行を検証し、関連分子の発現及びリン酸化を検討する。

4. 研究成果

1)ケロイド組織における YAP/TAZ の核内移行の検討

全てのケロイド組織で、病変内の線維芽細胞において、YAP/TAZ の核内移行が認められた (図 1)。

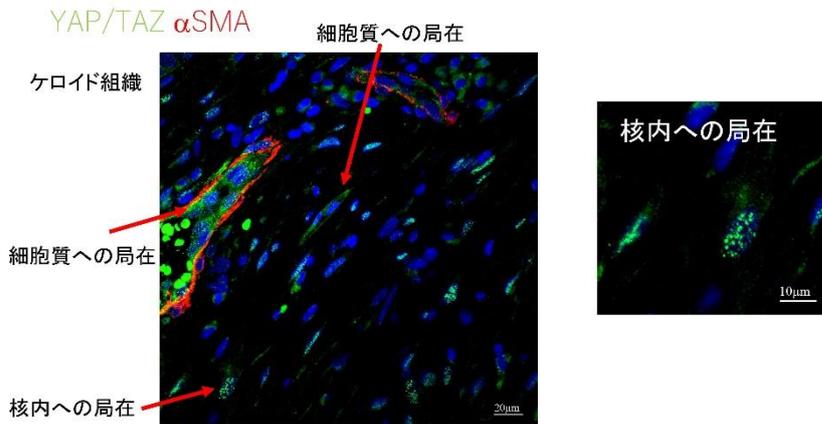


図1 ケロイド組織における YAP/TAZ 免疫染色像

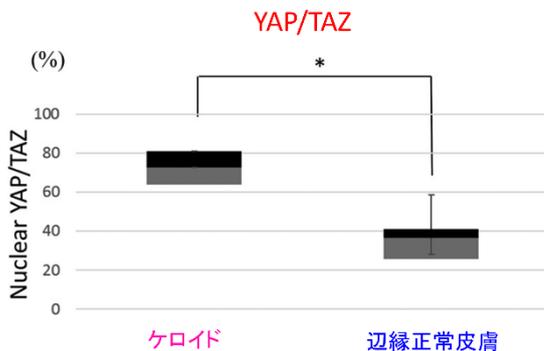


図2 ケロイド組織および辺縁正常皮膚内の線維芽細胞における YAP/TAZ 核内移行率

また辺縁正常皮膚と比較すると YAP/TAZ の核内移行率は有意差を持ってケロイド病変内で高かった (図2)。

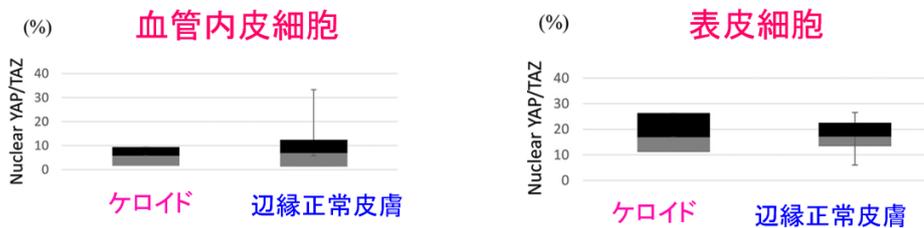


図3 ケロイド組織および辺縁正常皮膚内の表皮細胞および血管内皮細胞における YAP/TAZ 核内移行率 (%)

一方、血管内皮細胞や表皮細胞では核内移行率に有意な差は認められなかったため、ケロイド組織における硬さのシグナルは線維芽細胞が関知している可能性が示唆された。

2)マウス肥厚性癬痕モデルにおける SHP2, RAS-MAPK 経路,Wnt 経路分子及びリン酸化の発現検討

マウス背部癬痕モデルにおいては、ヒト組織の結果と同じく、線維芽細胞における YAP/TAZ の核内移行率がコントロール群に比べ、高かった。

方法2)、3)に関しては、データ集積・解析が終わっていないため、その結果を踏まえ、今後 YAP/TAZ の核内移行阻害薬などを用い、治療に応用できる可能性を検討して行く予定である。

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