

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592723

研究課題名(和文)ケロイド発生に關与するIL-6プロモーター領域一塩基多型の同定とその機能解析

研究課題名(英文)A polymorphism in the IL-6 promotor region associated with the keloid in the Japanese population

研究代表者

土佐 眞美子(Mamiko, Tosa)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：30301568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ケロイド発生は人種による頻度差が知られており、遺伝要素の關与が推測されている。これまでの研究結果より、ケロイド発生とIL-6遺伝子との關連性が明らかになったことから、臨床的に明らかなケロイドを持つ患者群とケロイドを持たないコントロール群のDNAを用いてIL-6プロモーター領域のSNP(一塩基多型)解析を行った。その結果、IL-6SNP(rs1800796)が、有意に關わっていた(P 0.05)。特に、ケロイド発生部位が3部位以上の群では、オッズ比5.333、フィッシャーの正解確率法による検定P値は $5.349 \times 10^{-5}$ で有意な關連性が示唆され、ケロイド体質早期診断や新治療への応用等が期待される。

研究成果の概要(英文)：Keloid develops as an abnormal wound healing lesion in genetically predisposed individuals. IL-6 is involved in both cell proliferation and collagen synthesis. We previously reported up-regulation of the IL-6 and its involvement in the pathogenesis of keloid. In this study, we investigated whether SNPs in the IL-6 promoter region or IL-6 receptor (IL-6R) gene might be associated with keloid and if so its relationship with clinical severity of the disease. The IL-6 -572G/C polymorphism was significantly associated with keloid in general and clinical severity of keloid in particular, thus suggesting a potential role for the IL-6 promoter SNP analysis in predicting the susceptibility to keloid formation and facilitating therapeutic managements.

研究分野：ケロイド

キーワード：ケロイド IL-6 SNP 遺伝子解析

1. 研究開始当初の背景

(1)ケロイドに関する分子レベルの研究は多数報告されているが、ケロイド原因遺伝子の解明には至っていない。ケロイドは、放置すると徐々に拡大して、強い痛みや痒みを伴う。さらに、赤く硬く隆起するため、精神的苦痛も少なくない。動物モデルが確立していないため、特効薬もなく、ケロイド発症予知診断が不可能であるために、ケロイドが増大・悪化した状態から治療を開始しているのが現状である。そのため、ケロイド完治までには、長期間の治療が必要となり、完治前に治療から離脱するケースも少なくない。従って、ケロイド新治療の確立とケロイド発症予知システムの開発は急務である。

(2)IL-6 は、炎症性サイトカインとしてよく知られているが、近年、癌発生や組織の線維化などへの関与が報告されている。われわれは、マイクロアレイ法によりケロイドにおいて特徴的な遺伝子発現パターンを解析したところ、その中心に IL-6 遺伝子が働いており実際に、ケロイド組織において IL-6 遺伝子が高発現していることを報告した。また、ケロイド由来線維芽細胞を用いた機能解析の結果、正常皮膚由来線維芽細胞に IL-1 を作用させ、IL-6 活性を刺激すると、コラーゲン関連遺伝子発現が亢進し、コラーゲン産生能も増加した。一方、ケロイド由来線維芽細胞に抗 IL-6 抗体を作用させると、コラーゲン関連遺伝子発現は抑制され、コラーゲン産生能も減少した。これらの結果より、ケロイド発生に IL-6 が関与している可能性が示唆された。

(3)ケロイド発生率は、人種間に差があることが報告されている。ケロイド発生に遺伝的要素が関与している可能性が高く、今回 IL-6 をターゲットとした一塩基多型解析(SNP)を行った。

2. 研究の目的

われわれは、ケロイド発生に IL-6 シグナルが深く関与していることを明らかにしてきた(Journal of Investigative Dermatology 2005, 2007)。

今回は、IL-6 プロモーター領域の一塩基多型(SNP)解析を行い、ケロイド発生に関与する SNP を同定し、その機能を明らかにすることを本研究の目的とする。その結果をもとに、ケロイド発症予知診断システムの開発を試み、最終的にはケロイド発生機序の解明と SNP をターゲットとしたケロイド新治療の確立を目指すものである。

3. 研究の方法

<対象> 日本医科大学遺伝子研究倫理審査

委員会承認後、日本医科大学武蔵小杉病院形成外科にてインフォームドコンセントを得た日本人ケロイド患者とケロイドを認めない健常ボランティアを対象とした。ケロイドの診断は、ケロイド専門外来担当医が確実にを行い、熱傷を含む外傷例は除外した。

<解析方法>

患者の末梢血、あるいはケロイド組織より DNA を抽出した。

IL-6 のプロモーター領域(rs1800796)と IL-6R (rs2228145)の一塩基多型(SNP)部位について遺伝子多型パターンを Taqman probe 法で解析した。

比較対象集団は Hap-Map データベース(JPT)と、明らかにケロイド発生を認めないコントロール群とした。ケロイドと 2SNPs との関連解析をカイ 2 乗検定法、フィッシャーの正確確率法などを用いて行った。

候補 SNP の遺伝子方頻度やアレル頻度に関して、ケロイド臨床像や血中 IL-6 値との関連性を統計解析した。

4. 研究成果

(1)IL-6-572 に SNP を認めた。

(2)まず、ケロイド群 170 例を Hap-Map データ(88 例)について比較すると、CG パターン率が約 2 倍であった。さらに、ケロイド群 206 例をケロイドを認めない正常コントロール群 139 例を比較すると CG パターン率は約 2 倍であった(表 1)。

	IL-6 -572 (rs1800796)	Genotype			Allele		
		C/G	C/C	G/C	G/G	C	G
1 <sup>st</sup> Series	Hap-Map-JPT ss66538722 (88)	0.75 (66)	0.227(20)	0.023(2)	0.864	0.136	
	Keloid (170)	0.524 (89)	0.406 (69)	0.071(12)	0.726	0.274	
2 <sup>nd</sup> Series	Control (139)	0.705 (98)	0.245 (34)	0.0505(7)	0.827	0.173	
	Total (206)	0.514 (106)	0.442 (91)	0.0437(9)	0.735	0.265	
	Keloid Group	1 (77)	0.610 (47)	0.364 (28)	0.610(47)	0.792	0.208
		2 (54)	0.593 (32)	0.370 (20)	0.0370(2)	0.778	0.222
3 (75)		0.360 (27)	0.573 (43)	0.0667(5)	0.647	0.353	

表 1: ケロイド群における IL-6-572 解析結果

最終的には、臨床的に明らかなケロイドを持つ患者群 376 例とケロイドを持たないコントロール例 239 例の解析を行い、ケロイド群において IL-6SNP(rs1800796)が、有意に関わっていた(P 0.05)。特に、ケロイド発生部位が 3 部位以上の群では、オッズ比 5.333、フィッシャーの正確確率法による検定 P 値は 5.349x10<sup>-5</sup> で有意な関連性が示唆された。IL-6RSNP については、ケロイド群とコントロール群で有意差は認めなかった。

(2)血清 IL-6 濃度は、ケロイド群において有

意に高値であり(図 1-a)、IL-6-572 遺伝子型別でみると有意差はないものの CG タイプが高値であった(図 1-b)。

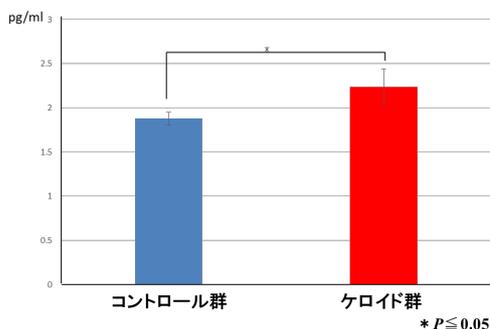


図 1-a : 血清 IL6 値

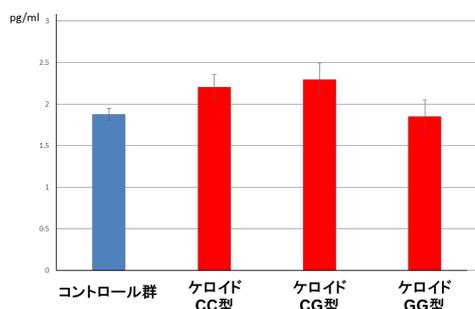


図 1-b : 血清 IL-6 値の遺伝子型別比較

組織中の IL-6 濃度は、ケロイド群において有意に上昇していた(図 2)。

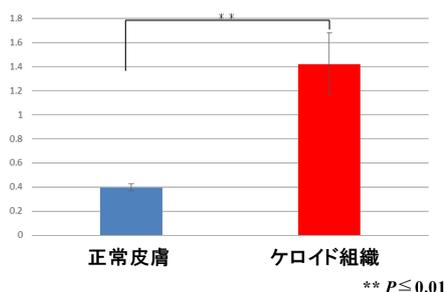


図 2 : ケロイド組織における IL-6 値

ケロイド患者において、IL-6-572 CG タイプの頻度が正常と比較して 2 倍高かった。また、ケロイド患者群の血清中 IL-6 値も、正常コントロール群と比較して有意に高く、これらの結果より、ケロイド発生に IL-6-572 が関与している可能性が示唆された。これを応用して、ケロイド体質早期診断法の確立や、ケロイド新治療の確立に向けた取り組みを進めていく。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 4 件)

- (1) 土佐眞美子、村上正洋、枝川聖子、ガジザデ・モハammad :ケロイド患者における IL-6 関連遺伝子多型パターンと臨床像の関連について. 第 56 回日本形成外科学会総会・学術集会. 2013/04/3-5.
- (2) M Ghazizadeh, M Tosa, A Watanabe, S Egawa, M Murakami. :IL-6 promoter polymorphisms and keloid susceptibility in the Japanese population. 第 6 回日本創傷外科学会総会. 2014/07/24-25.
- (3) 土佐眞美子、ガジザデ・モハammad、村上正洋:ケロイド患者における IL-6 一塩基多型と IL-6 値の関連性についての検討. 第 23 回形成外科学会基礎学術集会. 2014/10/9-10.
- (4) M Ghazizadeh, M Tosa. :IL-6 promoter polymorphism associated with keloid in the Japanese population. 第 26 回日本疫学学会学術集会総会. 2015/01/21-25.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

土佐眞美子 (TOSA Mamiko)  
日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：30301568

(2)研究分担者

渡邊 淳 (WATANABE Atsushi)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10307952

M GHAZIZADEH (モハマッド・ガジザデ)

日本医科大学・付置研究所・准教授

研究者番号：30190979

(3)連携研究者

( )

研究者番号：