

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592073
 研究課題名（和文）セリンプロテアーゼ様蛋白 HtrA1 をターゲットとした新規ケロイド治療の
 基礎的検討
 研究課題名（英文）Analysis of the molecular function of HtrA1 in keloid pathogenesis
 研究代表者
 内藤 素子 (NAITOH MOTOKO)
 京都大学・医学研究科・講師
 研究者番号：30378723

研究成果の概要：HtrA1 は、ケロイドに特徴的な遺伝子発現に重要な役割を担うことが示唆され、組織染色の結果とあわせて、ケロイド治療のターゲットならびに、治療方針の選択においてひとつの指標となる可能性を見いだした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：ケロイド、創傷治癒、生体分子

1. 研究開始当初の背景

ケロイドは難治性疾患として知られ、いまだ発症のメカニズムは解明されていない。そのため、根治療法は存在せず、臨床現場では治療に難渋するのが現状である。申請者らはこれまで、ケロイド発症機構を解明するため、ケロイド組織と正常皮膚組織からそれぞれ抽出したmRNAを用いてマイクロアレイ解析を行い、ケロイド発症に関連する遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、皮膚組織では通常発現が認められな

いもしくは非常に発現が少ない遺伝子の発現が、強く誘導されていることを発見し、このうちの32遺伝子を、ケロイド発症に関連のある遺伝子として報告した (Naitoh M. et al. *Genes Cells*, 2005, 10:1081-1091.)。申請者らはこの32遺伝子*1)の中で、特にHtrA1に注目し、今後の研究を進めることとした。HtrA1は、これまでに卵巣癌、悪性黒色腫、変形性膝関節炎、加齢性黄斑変性症などの疾患との関連が報告されているが、その分子機能については不明な点が多い。申請者らは、HtrA1がケロイドにおいて過剰発現していることを世界で初めて報告したが、ケロイドに

おける本分子の機能を解明し治療ターゲットとしての可能性を探索することを計画した。

2. 研究の目的

ケロイド組織 20 例以上を対象とし、HtrA1 mRNA 発現細胞の局在と HtrA1 蛋白の局在を同定する。組織内での発現量と予後（再発率、再発までの期間等）との相関性ならびに、ケロイドに特徴的な発現を示す遺伝子発現への影響を調査する。

3. 研究の方法

インフォームドコンセントを得たケロイド患者検体より、パラフィンブロックを作成し、Human HtrA1 probeを用いたin situ hybridizationならびに抗HtrA1抗体を用いた免疫組織学的染色を 10 例に行った。これらの症例は、手術後、本研究期間を通して外来にて継続的に経過観察を行った。ケロイド細胞においてSteath RNAi (Invitrogen)を用いて、HtrA1のノックダウン実験を実施した。コントロールケロイド細胞とHtrA1ノックダウンケロイド細胞とで、遺伝子発現をマイクロアレイ法に比較検討した。

4. 研究成果

HtrA1 遺伝子及び蛋白は、ケロイド病変部の辺縁に強く発現する傾向がみられた（図 1）また、HtrA1 発現がほとんどみとめられなかった症例（図 2）では放射線療法を併用せずとも、再発を認めなかったことから、HtrA1 の発現は予後ならびに治療方針を検討する上でひとつの指標になりうる可能性が示唆された。また、ケロイド細胞において HtrA1 のノックダウンを行った（図 3）ところ、申請者らがケロイドにおいて過剰発現している特徴的な遺伝子として報告した (Naitoh, et al. Genes Cells, 10.1081-1091, 2005) 遺伝子のうちのひとつ（遺伝子A）が、発現低下することが判明した（図 4）。このため、HtrA1は、ケロイドに特徴的な遺伝子発現に重要な役割を担うことが示唆され、組織染色の結果とあわせて、ケロイド治療のターゲットならびに、治療方針の選択においてひとつの指標となる可能性が示唆された。



図 1



図 2

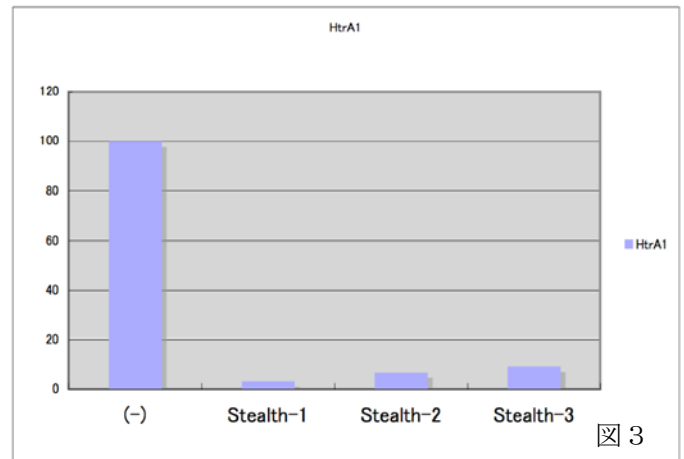


図 3

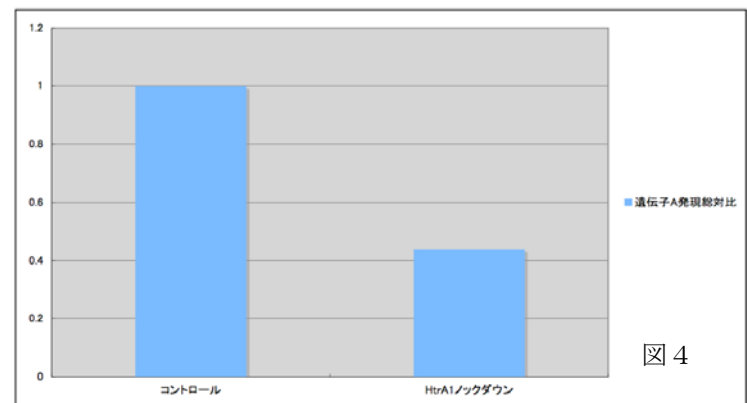


図 4

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は下線）

〔雑誌論文〕（計 4 件）

- ① Mizobuchi N, Hoseki J, Kubota H, Toyokuni S, Nozaki J, Naitoh M, Koizumi A and Nagata K. *Cell Struct Funct*. 2007; 32(1):41-50 査読有
- ② 内藤素子 「肥厚生癬痕・ケロイドを予防するには」 *Derma* 「実践創傷治癒 ABC」.2007;129:74-80 査読無
- ③ 内藤素子 「ケロイドにおける serine protease-like protein HtrA1 の発現上昇」ケロイド・肥厚性癬痕研究会記録集.2007;34:9-14 査読無
- ④ 山脇聖子、内藤素子、鈴木茂彦 「ケロイドと肥厚性癬痕」 *PEPARS*. 2008;21:13-17 査読無

〔学会発表〕（計 5 件）

- ① 石河利広、内藤素子、吉川勝宇、山脇聖子、池田実香、鈴木茂彦 「ケロイドにおける Serine Protease-Like Protein HtrA1」 第 16 回日本形成外科学会基礎学術集会、2007 年 10 月 11 日、神戸

②池田 実香、内藤素子、石河利広、吉川勝宇、山脇聖子、鈴木茂彦

「ケロイドにおけるコンドロイチン硫酸の過剰蓄積と病態への影響」第16回日本形成外科学会基礎学術集会、2007年10月12日、神戸

③内藤素子、久保田広志、石河利広、吉川勝宇、山脇聖子、鈴木茂彦、永田和宏「大腸菌多機能プロテアーゼ/シャペロンHtrA/DegPのヒトホモログの一つHtrA1の発現はケロイドの病期と予後に相関する」第3回臨床ストレス応答学会大会、2008年11月14日、秋田。

④石河利広、内藤素子、久保田広志、池田実香、吉川勝宇、山脇聖子、永田和宏、中邨智之、鈴木茂彦「ケロイドにおける弾性線維欠損のメカニズム」第40回結合組織学会、2008年5月30日 東京

⑤石河利広、内藤素子、吉川勝宇、山脇聖子、池田実香、久保田広志、鈴木茂彦「ケロイドに蓄積するグリコサミノグリカンの解析」第17回日本形成外科学会基礎学術集会、2008年10月3日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内藤 素子 (NAITOH MOTOKO)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：30378723

(2) 研究分担

鈴木 茂彦 (SUZUKI SHIGEHICO)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：30187728

2007年度

永田 和宏 (NAGATA KAZUHIRO)
京都大学・再生医科学研究所・教授
研究者番号：50127114

(3) 連携研究者

2008年度

永田 和宏 (NAGATA KAZUHIRO)
京都大学・再生医科学研究所・教授
研究者番号：50127114