

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 8 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462737

研究課題名(和文)ケロイド発生における局所、全身、遺伝因子の相互作用機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of interaction between local, systemic and genetic factors of keloid development.

研究代表者

小川 令(Ogawa, Rei)

日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授

研究者番号：70398866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ケロイド患者204症例のGWAS解析の結果、一塩基多型の1つrs8032158のアレル頻度が、ケロイド患者と正常人とで異なり、rs8032158がケロイドの重症度と相関関係にあることが示された。

ケロイド患者304症例で、高血圧の合併率を検討した。ケロイドの重症患者で統計学的に優位に高血圧を合併していることが示された。局所因子においては、手術検体からケロイド、隣接する正常皮膚組織を採取し組織を分散し、細胞懸濁液をそれぞれ作成した。さらにMagnetic activated cell sortingにより、皮膚微小血管内皮細胞の分離を行った。現在も解析中である。

研究成果の概要(英文)：The 204 cases were analyzed by GWAS. Assessment of rs8032158 revealed that in the dominant mode of inheritance, the severe keloid group had significant ORs compared with both the controls and the mild keloid group. Thus, rs8032158 associated strongly with severe keloids.

The retrospective cross-sectional study involved 304 consecutive patients with keloids who were surgically treated in our hospital. Their blood pressure (BP), age and gender, and the size and number of their keloids before surgery were recorded. Ordinal logistic regression analyses showed that BP associated significantly with both keloid size and number.

Vascular endothelial cells were sorted by magnetic activated cell sorter. Gene expression of these cells is studied. The analysis is undergoing.

研究分野：創傷治癒

キーワード：創傷治癒

### 1. 研究開始当初の背景

ケロイドの発生に、線維芽細胞の機能異常を示唆する論文は多いものの、動物モデルが使用できないため、いまだ仮説の域を出ていない。臨床的には、家族性に発生することがあり、日本人ケロイド患者におけるゲノム上の一塩基多型 (SNPs) の異常が報告されていることから、SNPs などの遺伝因子の関与が示唆されている。一方、高血圧や妊娠中の患者で悪化することが知られているため、全身的な因子の関与も示唆される。さらに、体に好発部位があることから、局所的な因子の関与も考えられる。

局所因子の解明としては、われわれのコンピューターシミュレーションを用いたケロイド周囲皮膚の張力の解析 4)において、ケロイドの形態が皮膚の張力によって定義され得ることを示し、また米国において皮膚に伸展刺激を加えることによってマウスにケロイドと同じコラーゲンの過剰蓄積である肥厚性癬痕を作成した論文 5)が報告された。さらに、マウスの正常皮膚を伸展するだけでも、神経伝達物質をはじめ、種々の遺伝子発現が変化することをわれわれは示してきた。これらを背景に、皮膚が力学的な刺激にตอบสนองして、コラーゲンを過剰に産生している可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

ケロイドは、いまだ難治であり発生機序の解明が困難な皮膚の線維増殖性疾患である。本研究では、ケロイドの発生機序を 遺伝因子、全身的因子、局所因子の3点において、横断的・総合的に解明する。これらの因子の個々の研究は存在しているが、横断的研究は皆無である。

遺伝因子として、一塩基多型 (SNPs) の関与が示唆されており 1)、また 全身的因子としてはホルモンや高血圧 2)、また血中の骨髄由来細胞の関与が示唆されている。一方、局所的因子に関しては、力学的刺激の重要性、そしてメカノシグナル伝達経路の関与をわれわれは報告してきた 3)。本研究では、これら三要素の相互関係を、遺伝子発現解析、シグナル伝達経路解析を通じて、臨床像の疫学調査ならびにバイオインフォマティクス的手法を用いて明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

遺伝因子の解析：ケロイド患者の血液を採取して、すでに報告のある 4 領域について SNPs をタイピングする。

全身的因子の解析：ケロイド患者の血液を採取して、ホルモンやサイトカインの濃度を即位する。また、ケロイド患者における高血圧含有率、JSW scar scale 1)による重症度判定を疫学的に行う。

局所因子の解析：ケロイド組織を採取して、マイクロアレイによる網羅

的遺伝子発現解析、シグナル伝達経路の解析を行う。

の横断的解析によって相互作用を明らかにする。適宜ケロイド組織を採取して、リアルタイム RT-PCR、タンパク発現解析、免疫染色などを追加する。

### 4. 研究成果

ケロイド患者 204 症例で GWAS を行った。その結果、一塩基多型の 1 つ rs8032158 のアレル頻度が、ケロイド患者と正常人とで異なることが示された。さらに JSW scar scale を用いてケロイドの重症度を評価したが、rs8032158 がケロイドの重症度と相関関係にあることが示された。

ケロイド患者 304 症例で、高血圧の合併率を検討した。ケロイドの数が多い患者、ケロイドの面積が大きい患者で統計学的に優位に高血圧を合併していることが示された。

局所因子においては、手術検体からケロイド、隣接する正常皮膚組織を採取し、gentleMACS Octo Dissociator with Heaters®を用いて組織を分散し、細胞懸濁液をそれぞれ作成した。さらに Magnetic activated cell sorting により、皮膚微小血管内皮細胞の分離を行った。

分離されたケロイド皮膚微小血管内皮細胞、正常皮膚微小血管内皮細胞の純度、回収率をフローサイトメーターで検証した後、それぞれ遺伝子発現をマイクロアレイにて解析した。現在も解析中であり結果は出ていない。

### 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 5 件)

1. Arima J, Huang C, Rosner B, Akaishi S, Ogawa R. Hypertension: a systemic key to understanding local keloid severity. *Wound Repair Regen*. 2015 Mar-Apr;23(2):213-21.
2. Ogawa R, Akaishi S. Endothelial dysfunction may play a key role in keloid and hypertrophic scar pathogenesis - Keloids and hypertrophic scars may be vascular disorders. *Med Hypotheses*. 2016 Nov;96:51-60.
3. Ogawa R. Keloid and Hypertrophic Scars Are the Result of Chronic Inflammation in the Reticular Dermis. *Int J Mol Sci*. 2017 Mar 10;18(3).
4. Huang C, Liu L, You Z, Zhao Y, Dong J, Du Y, Ogawa R. Endothelial Dysfunction and Mechanobiology in Pathological Cutaneous Scarring: Lessons Learned from Soft Tissue Fibrosis. *Br J Dermatol*. 2017 Apr 12.

5. Matsumoto NM, Peng WX, Aoki M, Akaiishi S, Ohashi R, Ogawa R, Naito Z. Histological analysis of hyalinised keloidal collagen formation in earlobe keloids over time: collagen hyalinisation starts in the perivascular area. Int Wound J. 2017 May 3.

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 野一色千景, 小川令, 久保田芳明, 高木元, 有馬樹里, 赤石諭史, 百束比古. ケロイドの若年発症における血管内皮機能の検討. 第 58 回日本形成外科学会総会・学術集会. 京都. 2015. 4.
2. 松本典子, 小川令. 病理学教室の紹介とケロイドの組織学的研究. 第 14 回谷根千形成懇談会. 東京. 2015. 7.
3. 多賀麻里絵, 赤石諭史, 小川令. ケロイド内の血管に関する電子顕微鏡による解析. 第 14 回谷根千形成懇談会. 東京. 2015. 7.
4. 多賀麻里絵, 赤石諭史, 土肥輝之, 小川令. ケロイド内血管の多角的検討. 第 83 回日本医科大学医学会総会. 東京. 2015. 9.
5. 松本典子, 佐野仁美, 彭為霞, 大橋隆治, 内藤善哉, 小川令. 耳垂ケロイドの臨床症状と組織型の検討. 第 24 回日本形成外科学会基礎学術集会. 岩手. 2015. 10.
6. 赤石諭史, 小川令. ケロイド発生に関する血管の関与の可能性. 第 10 回癬痕・ケロイド治療研究会. 岩手. 2015. 10.
7. Tien Linh, 小野真平, 飯村剛史, 小川令. MDCT によるケロイド周囲の血管構造の解析. 第 26 回日本医科大学外国人留学者研究会. 東京. 2016. 2.
8. 野一色千景, 赤石諭史, 小川令. 当院でのケロイド患者の統計学的考察. 第 59 回日本形成外科学会総会・学術集会. 福岡. 2016.4.
9. 野一色千景, 久保田芳明, 高木元, 有馬樹里, 赤石諭史, 小川令. ケロイドの発生・増悪と血管内皮機能障害の関連性の検討. 第 1 回日本血管不全学会学術集会. 東京. 2016.4.
10. 松本典子, 彭為霞, 青木雅代, 赤石諭史, 大橋隆治, 内藤善也, 小川令. ケロイド組織における硝子化した膠原線維の組織学的検討. 第 15 回谷根千形成懇話会. 東京. 2016.7.
11. 野一色千景, 早坂明哲, 赤石諭史, 小川令. ケロイドの原因と部位の統計学的観察. 第 15 回谷根千形成懇話会. 東京. 2016.7.
12. 野一色千景, 早坂明哲, 赤石諭史, 小川令. ケロイドの原因・部位・性差の検討. 第 11 回癬痕・ケロイド治療研究会. 東京. 2016.8.
13. 小川令, 赤石諭史, 有馬樹里, 野一色千景, 松本典子. いわゆる「ケロイド体質」の解明に向けて. 第 84 回日本医科大学医学会総会. 東京. 2016.9.
14. 野一色千景, 早坂明哲, 赤石諭史, 小川令. ケロイドの原因・部位・性差の検討. 第 84 回日本医科大学医学会総会. 東京. 2016.9.
15. 松本典子, 彭為霞, 青木雅代, 赤石諭史, 大橋隆治, 内藤善哉, 小川令. ケロイド組織における硝子化した膠原線維の組織学的検討. 第 25 回日本形成外科学会基礎学術集会. 大阪. 2016.9.
16. 小川令. 皮膚の線維化を再考する！－ケロイドの病態とその最新治療－. 第 14 回線維化病態研究会. 東京. 2017.2.

〔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：  
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  
小川令 (OGAWA Rei)  
日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授

研究者番号：70398866

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )