

令和 元年 5 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10806

研究課題名(和文) 手掌腱膜における線維化制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on the mechanism of fibrosis of the palmar fascia in Dupuytren's contracture

研究代表者

松井 雄一郎 (Matsui, Yuichiro)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：20374374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：2016年度までの研究により、デュピュイトラン拘縮における線維化の治療標的部位は、拘縮索(cord)ではなく結節(nodule)であること、治療のターゲット分子はインテグリン α vであることが示唆された。2017～2018年度では、病的手掌腱膜においてSTAT3及びNF- κ Bp65の活性化を認めたことから、本疾患において「炎症回路」が活性化していることが示唆された。また、SFRP4近傍の二つのSNP { (rs17171229)及び(rs16879765) } で、リスク遺伝子座の偏りが認められたことから、Wntシグナル伝達経路の異常が、本疾患の発症・進行に関与していることも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デュピュイトラン拘縮においてnoduleが線維化の活性化部位であることを示し、インテグリン α vの発現上昇によりTGF- β 1が活性化され、線維化を促進する可能性が示唆された。次に、病的手掌腱膜においてSTAT3及びNF- κ Bの活性化を認めたことから、本疾患の「炎症回路」の関与が示唆された。また、分泌型Wntアンタゴニストの1つであるSFRP4近傍のSNPでリスク遺伝子座の偏りが認められたため、Wntシグナル伝達経路の異常が、デュピュイトラン拘縮の発症・進行に関与していることも示唆された。本研究におけるデュピュイトラン拘縮の病態解析により、さらに有用な治療法の開発の一助となるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Activation of STAT3 and NF- κ B p65 was identified in the affected palmar fascial tissues from the patients with Dupuytren's contracture. In addition, in the SNP analysis, genetic loci of risk were observed with uneven distribution in the patients with Dupuytren's contracture. These included a SNP present between the genes SFRP4 and EPDR1. The activation of STAT3 and NF- κ B p65 in the palmar fascial tissues from the patients with Dupuytren's contracture suggests that an inflammatory circuit is activated in this disease. The relationship between the genes and SNPs with uneven distribution and the inflammatory circuit will be functionally analyzed in a knock-down experiment.

研究分野：手外科

キーワード：Dupuytren拘縮 線維化 炎症回路

1. 研究開始当初の背景

Dupuytren (デュピュイトラン)拘縮は、手掌腱膜の病的肥厚により、手掌部の疼痛や手指の屈曲拘縮が生じ、日常生活機能に多大な障害をきたす疾患である。原因は不明であるが、50代以降の男性に好発し、手掌腱膜の線維化がこの疾患の発症・進行に関係する。初期には、手掌腱膜に“nodule”と呼ばれる結節が出現し、徐々に“cord”と呼ばれる索状物が形成され、指の屈曲拘縮が見られるようになるのが特徴的である。

保存療法の多くは無効であることから、これまで外科的治療(腱膜切除術)が一般的であった。しかし、近年、コラゲナーゼ製剤による cord への局所注射治療が厚生労働省にて承認され、我が国では治療法が大きく変わりつつある。一方、海外ではコラゲナーゼ薬は腱断裂等の重篤な副作用が報告されているため、より副作用の少ない、拘縮が完成する前の早期に対応できる、効果的な治療法の開発が期待されている。

デュピュイトラン拘縮の増悪化のメカニズムについては、筋線維芽細胞の増殖が指摘されており、その増殖には線維化を促進する増殖因子である transforming growth factor-1 (TGF-1)の関与が指摘されている(Kloen B. J Plast Surg 1999)。そして TGF-1 は膜貫通型受容体であるインテグリンにより活性化されることが報告されている(Kitamura et al. J Clin Invest 2011)。これらを踏まえた先行研究結果から、インテグリンにより潜在型 TGF-1 が活性化され、筋線維芽細胞によるコラーゲン産生が亢進することで線維化が進行するという作業仮説を立てた。そこで本研究の目的は、デュピュイトラン拘縮におけるインテグリンに関する新たな増悪化メカニズムの解明を進めるとともに、新規治療法への発展性も検討することである。

2. 研究の目的

(1) デュピュイトラン拘縮における病的手掌腱膜を、nodule と cord に分けて採取し、腱膜組織中の種々のインテグリンや分泌型 TGF-1 の発現を検出する。

(2) さらに線維芽細胞表面上のインテグリンの発現を、フローサイトメトリーにて検討することにより手掌腱膜の線維化メカニズムを解析する。

(3) 病的手掌腱膜を用いた、炎症回路の検証及び SNP 解析により、本疾患の発症機構に新たな知見をもたらす。

3. 研究の方法

(1) 対象

デュピュイトラン拘縮にて部分腱膜切除を施行した 8 例 8 手で、全例男性、平均年齢は 72 歳だった。また、コントロールは特発性手根管症候群の 8 例 8 手で、男性 2 例、女性 6 例、平均年齢は 67 歳、手根管開放術の際に摘出した手掌腱膜を用いた。

(2) 病的手掌腱膜内の分泌型 TGF-1 や各種インテグリンの発現解析について

デュピュイトラン患者の病的手掌腱膜組織において、分泌型 TGF-1 や種々のインテグリンなどについて免疫組織化学的検討やリアルタイム PCR などによる mRNA レベルの発現解析を行う。

(3) 線維芽細胞上におけるインテグリンの発現解析について

病的手掌腱膜から線維芽細胞を分離し、細胞膜表面上の種々のインテグリン発現をフローサイトメトリーにて検討する。正常腱膜由来線維芽細胞と比較することで、デュピュイトラン患者由来の線維芽細胞上で発現亢進しているインテグリンを明らかにする。

(4) デュピュイトラン拘縮における炎症回路の検証及び SNP 解析について

本疾患において線維芽細胞が筋線維芽細胞へ分化誘導を促進する要因の一つとして慢性炎症の関与が指摘されている。我々は、線維芽細胞などの非免疫細胞における STAT3 と NF- κ B の同時活性化によりケモカインが大量に産生され、局所炎症をもたらす分子機構「炎症回路」を同定し、関節リウマチや多発性硬化症などの様々な病態に関与することを解明している(Murakami M et al. J. Exp. Med, 2011)。そこで、デュピュイトラン拘縮の発症・進行においても、この炎症回路が関与しているのではないかと考えた。そこで採取した手掌腱膜におけるリン酸化 STAT3 及び NF- κ B p65 の発現を免疫組織化学的に検討した。さらにはそれぞれの組織からゲノム DNA を抽出し、本疾患に関わる SNP を検出した。

4. 研究成果

(1) NoduleにおけるTGF- β 1の発現は、正常腱膜と比較して有意に上昇することを確認した。さらにデュピュイトラン拘縮病変部位、特に nodule においてインテグリン α v 及び β 8 発現が亢進することが分かった。

(2) Nodule 由来の線維芽細胞は、コントロール群の線維芽細胞と比較して、細胞表面上でインテグリン α v の有意な発現上昇を認めた。また、nodule 由来の線維芽細胞培養上清中からは分泌型 TGF- β 1 を検出した。本研究結果より、nodule 由来の線維芽細胞上で α v のインテグリンが発現上昇することが示され、nodule が線維化の活性化部位であることが示唆された。

(3) 病的手掌腱膜において免疫組織化学的に STAT3 及び NF- κ B p65 の活性化を認めた(図1)ことから、デュピュイトラン拘縮において炎症回路が活性化していることが示唆された。また、SFRP4-EPDR1 の SNP (rs17171229) 及び SFRP4 の SNP (rs16879765) で、リスク遺伝子座の偏りが認められた(図2)。今後、偏りが認められた SNP を含む遺伝子と炎症回路の関係性を、ノックダウン実験などで機能的に解析する予定である。

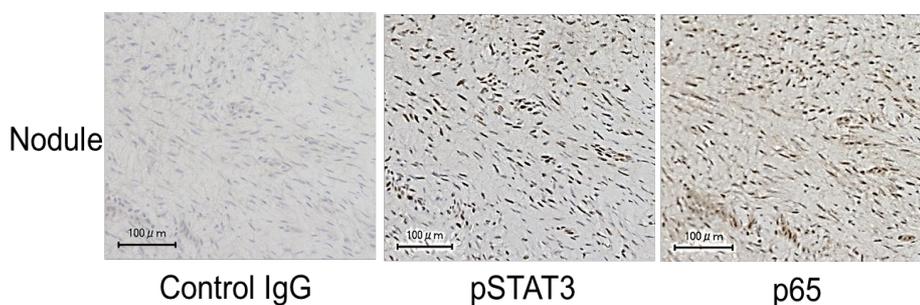


図1. Dupuytren 拘縮組織における炎症回路の活性化

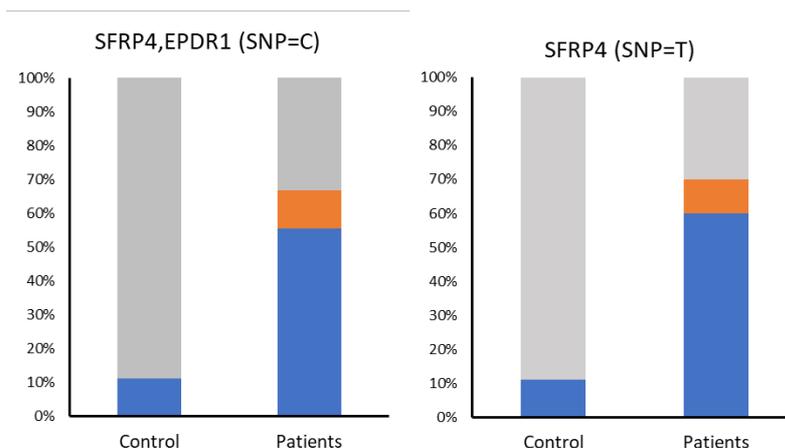


図2. SNP の検出

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Matsui Y, Kon S, Funakoshi T, Miyashita T, Matsuda T, Iwasaki N. Increased expression of α v integrin as a regulator of fibrosis in Dupuytren's nodules. J Hand Surg Eur, 42, 18-25, 2017、査読有
DOI: 10.1177/1753193416635489.

〔学会発表〕(計4件)

松井雄一郎, 上村大輔, 河村太介, 瓜田淳, 門間太輔, 村上正晃, 岩崎倫政: Dupuytren 拘縮における炎症回路活性化と疾患関連遺伝子の機能的関与の解析, 第33回日本整形外

科学会基礎学術集会，2018年

松井 雄一郎，上村 大輔，河村 太介，瓜田 淳，門間 太輔，永野 裕介，村上 正晃，岩崎 倫政：Dupuytren 拘縮における炎症回路活性化と疾患関連遺伝子の機能的関与，第135回北海道整形災害外科学会，2018年

松井 雄一郎，今 重之，船越 忠直，河村 太介，松田 正，岩崎 倫政：Dupuytren 拘縮における線維化メカニズムの解析，第60回日本手外科学会学術集会，2017年

松井 雄一郎，今 重之，船越 忠直，河村 太介，亀田 裕亮，宮下 友恵，松田 正，岩崎 倫政：Dupuytren 拘縮におけるインテグリン v の関与，第89回日本整形外科学会学術総会，2016年

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：村上 正晃

ローマ字氏名：(MURAKAMI, masaaki)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：遺伝子病制御研究所

職名：教授

研究者番号(8桁)：00250514

研究分担者氏名：今 重之

ローマ字氏名：(KON, shigeyuki)

所属研究機関名：福山大学

部局名：薬学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：90344499

研究分担者氏名：船越 忠直
ローマ字氏名：(FUNAKOSHI , tadanao)
所属研究機関名：北海道大学
部局名：医学研究院
職名：客員研究員
研究者番号(8桁)：10528334

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。