

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11551

研究課題名(和文)ケロイド進展・増悪の分子病態生理の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of keloid progression

研究代表者

権太 浩一 (Gonda, Koichi)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：50254925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：真正ケロイド由来の線維芽細胞の供与を患者から十分に受けられなかったこともあって、ケロイド現象そのものとEDA-FNの発現・スプライシング異常との関係は、十分に明らかにすることはできなかった。しかし研究の過程において、培養細胞におけるブドウ糖消費と、創傷治癒現象との予想外の関連(細胞は供給されるブドウ糖の量に反応してその消費量を変動させる、という現象)が見出された。この結果に基づき、ラット生体で組織レベルで血行遮断を行って組織血管床内のブドウ糖の低下プロファイルを測定した結果、組織レベルでも細胞外ブドウ糖濃度の変動に反応してブドウ糖需要を調節している、という結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ブドウ糖の細胞内取り込みは、インスリン刺激や細胞内ATP量の減少に伴うAMPK (AMP-activated protein kinase) の活性化によって、細胞外ブドウ糖濃度の高低に反応してそれぞれ正や負の方向に調節される一方、それにも関わらず、細胞内では一定のブドウ糖消費が行われている、と暗黙の想定がなされている。ところが実際は、細胞レベルでも組織レベルでも、ブドウ糖の需要量の側も供給量の多寡によって調節が行われている、という事実が見出された。これは、高血糖・低血糖下の糖代謝、および、生物の飢餓に対する生存戦略の基本メカニズムに対するさらなる解明の糸口になると期待される。

研究成果の概要(英文)：We could not fully demonstrate the relevance of the aberrant expression of EDA-FN and its possible splicing abnormalities to the progression of keloid lesions, partly because we were not able to accept a substantial donation of keloid tissues and their derivative fibroblasts.

During the course of this study, however, we have found out the unexpected association between the cellular glucose consumption and wound healing phenomenon (Cells autoregulate their glucose demand according to the extracellular glucose supply). Based on this finding, we successfully recapitulate the autoregulatory phenomenon of glucose demand in a tissue level responding to the hematogenous glucose supply in 'in vivo' rodent model (Takeuchi K, Gonda K et al. *Plast Reconstr Surg* 144:409e, 2019). We are now further investigating the molecular mechanisms underlying this cellular autoregulation of glucose demand.

研究分野：形成外科学

キーワード：創傷治癒 糖代謝 ブドウ糖需要

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ケロイドの成因としては、古典的な炎症説と腫瘍説の論争の時代を経て、現在では TGF-beta 系、beta-catenin 系、Extra domain A-Fibronectin(EDA-FN) Toll-like receptor 4(TLR-4)系、EDA-FN Integrin 系といった複数の信号伝達系の関与が証明され、分子レベルでの病因が論じられる段階に来ている。現在までに得られた知見では、Extra domain A-Fibronectin(EDA-FN) (細胞外マトリックスの一種である Fibronectin の選択的スプライシングによる変異体で、生理的には胎生発生期と組織損傷後の創傷治癒の際に一過性に発現する) はヒトの正常組織には生理的に発現しないが、ケロイド線維芽細胞では正常型の Fibronectin の発現増加とともに EDA-FN の発現が亢進している。

ケロイドの成因メカニズムとして有力視されているシナリオとしては、EDA-FN が TLR-4 系および Integrin 系を刺激して、TGF-beta 系を介した線維芽細胞の活性化と、コラーゲンのほかさらなる EDA-FN を含む細胞外マトリックスの蓄積を増強するというポジティブフィードバックループを形成し、ケロイドが進展する、というもので、他のシグナル経路を介したメカニズムと並んで本シグナル経路についても精力的に研究がすすめられている。

### 2. 研究の目的

ケロイドの分子レベルでの病因を解明することを究極的な目的とする。現在までに得られているケロイドの分子病理学的知見をもとに、TGF-beta 系、beta-catenin 系、Extra domain A-Fibronectin(EDA-FN) Toll-like receptor 4(TLR-4)系、EDA-FN Integrin 系といった複数の信号伝達系が関与するポジティブフィードバックループがケロイドの進展・悪化の病態であるという仮説に基づき、ケロイド由来線維芽細胞においてこのフィードバックループを確認した上で、EDA-FN の発現抑制によってそのループを遮断し、ケロイドに特徴的な表現型(細胞増殖亢進、蛋白合成亢進等)の変化を調べることにより、ケロイド増悪の病態を分子情報伝達レベルで明らかにするとともに、ケロイドの治療につながる知見を得ることを具体的な目標とした。

### 3. 研究の方法

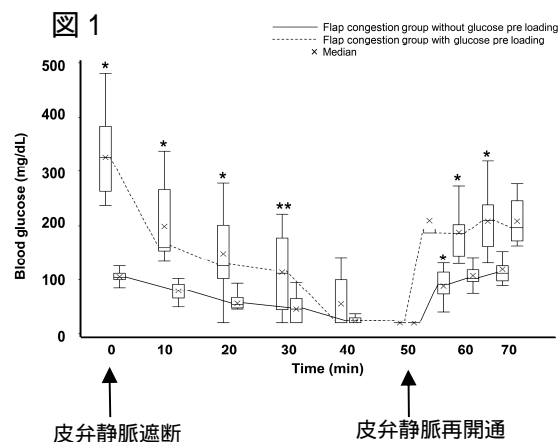
創傷治癒過程における異常現象としてのケロイド進展・増悪を、細胞内の転写・スプライシング段階での異常と仮定し、分子レベルでの異常を検知するために NIH3T3 細胞株を使って EDA-FN (fibronectin の変異体) の発現やスプライシング制御を調べた。

### 4. 研究成果

真正ケロイド由来の線維芽細胞の供与を患者から十分に受けられなかったこともあって、ケロイド現象そのものと EDA-FN の発現・スプライシング異常との関係は、十分に明らかにすることはできなかった。しかし、研究の過程において、組織や培養細胞におけるブドウ糖消費と、創傷治癒現象との予想外の関連が見出された。これは、皮弁移植などの創傷治癒が起こる際に、組織は供給されるブドウ糖の量が通常量である場合に比べ、ブドウ糖の供給量が多くなると消費を増やし、供給量が少ないとその消費を抑える、という現象であり、この結果、組織の血行遮断を行って組織血管床内のブドウ糖の低下プロファイルを測定すると、全身血糖が高くて低くても、組織内のブドウ糖濃度が一定レベル以下まで低下するのに要した時間は同等であった。つまり、組織(そして恐らくは細胞も)細胞外ブドウ糖濃度の変動に反応してブドウ糖需要を調節している、という仮説が成り立つ。研究者は、この現象を動物実験によるマクロ現象として発見し、再現性をもって証明した (Takeuchi K et al. *Plast Reconstr Surg* 144;409e, 2019...右下の図)。

現在、本研究課題に引き続いて、この現象を培養細胞レベル (NIH-3T3 線維芽細胞株、3T3-L1 脂肪細胞株) で再現し、その分子メカニズムを追っている。

ブドウ糖の細胞内取り込みは、インスリン刺激や細胞内 ATP 量の減少に伴う AMPK (AMP-activated protein kinase) の活性化によって、細胞外ブドウ糖濃度の高低に反応してそれぞれ正や負の方向に調節される一方、それにも関わらず、細胞内では一定のブドウ糖消費が行われている、と暗黙の想定がなされている。ところが実際は、細胞レベルでも組織レベルでも、ブドウ糖の需要量の側も供給量の多寡によって調節が行われている、という事実が見出された。これは、高血糖・低血糖下の糖代謝、および、生物の飢餓に対する生存戦略



の基本メカニズムに対するさらなる解明の糸口になると期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mochizuki Kana, Mochizuki Masato, Gonda Koichi	4. 巻 144
2. 論文標題 Flap Blood Glucose as a Sensitive and Specific Indicator for Flap Venous Congestion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plastic and Reconstructive Surgery	6. 最初と最後の頁 409e ~ 418e
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PRS.0000000000005957	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 権太 浩一, 五来 克也	4. 巻 38
2. 論文標題 陳旧性顔面神経麻痺における眉毛下垂の矯正度に影響する因子の検討および眉毛挙上術の適応についての考察	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Facial Nerve Research	6. 最初と最後の頁 67 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 権太 浩一, 高地 崇, 館 一史, 五来 克也	4. 巻 10
2. 論文標題 皮膚腫瘍切除後欠損に対する人工真皮移植単独による再建において治癒日数に影響する因子の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 創傷	6. 最初と最後の頁 142 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11310/jsswc.10.142	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mochizuki M, Aoi N, Gonda K, Hirabayashi S, Komuro Y	4. 巻 142
2. 論文標題 Evaluation of the In Vivo Kinetics and Biostimulatory Effects of Subcutaneously Injected Hyaluronic Acid Filler	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plast Reconstr Surg	6. 最初と最後の頁 112-121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PRS.0000000000004496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 権太浩一、五来克也	4. 巻 38
2. 論文標題 陳旧性顔面神経麻痺における眉毛下垂の矯正度に影響する因子の検討および眉毛挙上術の適応についての考察	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Facial N Res Jpn	6. 最初と最後の頁 67-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 権太浩一	4. 巻 60
2. 論文標題 グラフ作成法と統計解析	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 形成外科	6. 最初と最後の頁 749-762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 権太浩一、五来克也	4. 巻 37
2. 論文標題 陳旧性顔面神経麻痺の眼症状の治療法に対する誤解とそれをもたらす思考バイアス	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Facial Nerve Reseach Japan	6. 最初と最後の頁 19-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 権太浩一、館一史、高地崇
2. 発表標題 眼瞼挙筋 長さ - 張力曲線による眼窩脂肪線維化性の下垂要因の判別
3. 学会等名 第28回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 権太浩一、高地崇、舘一史、太田伸男、東海林史、鈴木貴博
2. 発表標題 サリルマブ投与によるIL-6シグナル系遮断環境下での遊離皮弁術～頻発する動脈攣縮との関連
3. 学会等名 第25回日本形成外科手術手技学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 権太浩一、五来克也
2. 発表標題 陳旧性顔面神経麻痺における眉毛高に影響する因子の検討および眉毛挙上術の適応・効果判定についての考察
3. 学会等名 第41回日本顔面神経学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 権太浩一、五来克也
2. 発表標題 皮膚腫瘍切除後欠損に対する人工真皮移植単独再建において治癒日数に影響する因子
3. 学会等名 第10回日本創傷外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 権太浩一、五来克也
2. 発表標題 Sunken eyeの病因としての眼窩脂肪線維化adipofibrotic blepharoptosis
3. 学会等名 第40回日本美容外科学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 権太浩一	4. 発行年 2019年
2. 出版社 克誠堂出版株式会社	5. 総ページ数 177
3. 書名 形成外科の治療指針 update 2019	

〔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
研究 分担者	山岡 尚世  (Yamaoka Hisayo)  (10444085)	帝京大学・医学部・講師   (32643)	
研究 分担者	五来 克也  (Gorai Katsuya)  (40524773)	帝京大学・医学部・講師   (32643)	
研究 分担者	青井 則之  (Aoi Noriyuki)  (70431872)	帝京大学・医学部・講師   (32643)	
研究 分担者	小室 裕造  (Komuro Yuzo)  (90306928)	帝京大学・医学部・教授   (32643)	

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