

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09639

研究課題名(和文) 手掌腱膜の繊維化における炎症増幅回路活性化分子の解析

研究課題名(英文) Analysis of molecules activating the inflammation amplification loop in fibromatosis of the palmar fascia

研究代表者

松井 雄一郎 (Matsui, Yuichiro)

北海道大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：20374374

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)：デュピュイトラン拘縮は手掌腱膜の病的な繊維化により手指の不可逆性の屈曲拘縮や手掌部の疼痛を生じる疾患である。いくつかのリスクファクターが知られているが、その詳細な病態は明らかとなっていない。本研究はデュピュイトラン拘縮における慢性炎症の存在と、すでに報告されている疾患関連遺伝子に着目して行われた。その結果本疾患において、非免疫系細胞におけるIL-6とNF- κ Bの同時活性化による慢性炎症増幅機構であるIL-6増幅回路(IL-6アンブ)が活性化していることが明らかとなった。さらに疾患関連遺伝子の一つであるSFRP4がIL-6アンブの活性化に寄与していることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦におけるデュピュイトラン拘縮の治療法として、発症初期の症例に対して進行を抑制する有効な方法は無い。進行した症例に対する病的な手掌腱膜切除や、海外では拘縮索へのコラゲナーゼ製剤の局所注射療法が行われ、一定の治療成績が報告されているが、これらの治療法は屈曲拘縮の残存および再発、屈筋腱損傷等の重篤な合併症が報告されており、より安全性・有効性の高い新規治療法が渴望されている。本研究により、デュピュイトラン拘縮におけるIL-6アンブを主体とした慢性炎症の存在及び、疾患関連遺伝子SFRP4の作用が明らかとなったことで、より低侵襲かつ有効性の高い治療薬開発及び発症初期の治療介入に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Dupuytren's contracture is a pathological fibrosis of the palmar aponeurosis that causes irreversible flexion contracture of the fingers and pain in the palmar region. Although several risk factors are known, the detailed pathogenesis of the disease remains unclear. This study focused on the presence of chronic inflammation in Dupuytren's contracture and the previously reported disease-associated genes. The results revealed that the IL-6 amplifier, a mechanism for amplification of chronic inflammation by simultaneous activation of IL-6 and NF- κ B in non-immune cells, is activated in this disease. Furthermore, SFRP4, one of the disease-associated genes, was found to contribute to the activation of IL-6 amplifiers.

研究分野：手外科

キーワード：慢性炎症 デュピュイトラン拘縮 IL-6増幅回路

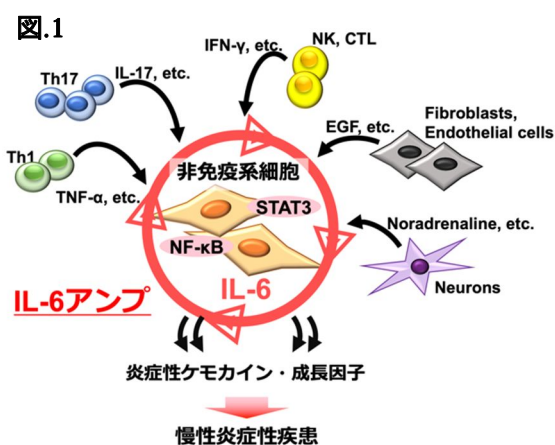
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

デュピュイトラン拘縮は手掌腱膜の線維性増殖に伴う肥厚、短縮により手指の不可逆性の屈曲拘縮を生じる疾患であり、日常生活動作に著しい支障をきたす。リスク因子として、性別(男性)、家族歴、外傷、糖尿病、アルコール摂取等が指摘されている。また、我々は病変部において特に、nodule と呼ばれる結節が病態の主座であることを報告しているが(Matsui, *J Hand Surg Am* 2017)、その詳細な病態は不明である。治療法として手術や酵素注射療法があるが合併症や再発のリスクを伴うことから、本疾患の病態解明と、より有効性・安全性の高い治療法の考案が望まれている。

近年ゲノムワイド関連解析(以下 GWAS)により、本疾患において複数の疾患関連一塩基多型(以下 SNPs) やその関連遺伝子が報告され、さらに、本疾患の発症・進行に慢性炎症の関与が示唆されている。

我々は、これまで IL-6 を中心に炎症性疾患の病因を検討してきた。その結果、非免疫系細胞において、IL-6-STAT3 と NF- κ B の同時活性化により、NF- κ B が過剰に活性化し、サイトカイン・ケモカイン・増殖因子が相乗的に産生される炎症増幅機構である IL-6 amplifier (以下 IL-6 アンブ) を発見した(図 1、Murakami, *Immunity* 2008)。また、IL-6 アンブの正の制御遺伝子として 1000 以上の候補遺伝子が明らかとなっており(Murakami,



Cell Reports 2013)、これに既報の GWAS のデータを組み合わせることで、自己免疫疾患を始めとした様々な疾患において疾患関連 SNPs が、IL-6 アンブの活性化により病態へ関与することを明らかとした(Murakami, *Immunity* 2019)。デュピュイトラン拘縮においても、複数の疾患関連 SNPs が報告されている。そこで我々は、本疾患においても疾患関連 SNPs により活性化された IL-6 アンブが疾患の発症・進行に関わるという仮説を立てた。

2. 研究の目的

デュピュイトラン拘縮の既報の疾患関連 SNPs をもとに、本疾患において IL-6 アンブを正に制御し得る候補遺伝子を同定する。

デュピュイトラン拘縮において IL-6 アンブが活性化していることを明らかにする。

上述の IL-6 アンブを正に制御する候補遺伝子が IL-6 アンブを活性化する機序を解明する。

3. 研究の方法

<デュピュイトラン拘縮において IL-6 アンブを正に制御し得る候補遺伝子の同定>

既報の疾患関連 SNPs 及びその関連遺伝子と、前述の IL-6 アンブを正に制御する候補遺伝子(Murakami, *Cell Reports* 2013)を照らし合わせ、本疾患の疾患関連遺伝子、かつ IL-6 を正に制御し得る候補遺伝子を同定する。

<デュピュイトラン拘縮における IL-6 活性化の評価>

北海道大学病院のデュピュイトラン拘縮患者及び対照群として手根管症候群患者の手掌腱膜組

織及び初代培養線維芽細胞を用いて免疫染色、qPCR を行い、本疾患における IL-6 アンプ活性化を評価した。

< 当院症例における当該 SNPs のリスクアレル頻度、及び細胞中の候補遺伝子の発現評価 >
採取組織を用いて、当院症例における当該 SNPs のリスクアレル頻度を評価した。また、デュピ
ユイトラン拘縮患者の初代培養線維芽細胞における上述の候補遺伝子の発現を qPCR により評価
した。

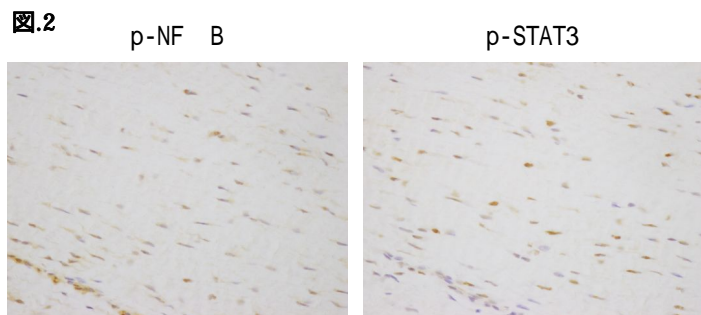
< 当該疾患関連遺伝子の発現抑制時の IL-6 アンプ活性の評価 >
siRNA 又は shRNA により SFRP4 発現を抑制した細胞において、IL-6 アンプ活性を qPCR により評
価した。

4. 研究成果

< デュピユイトラン拘縮において IL-6 アンプを正に制御し得る候補遺伝子の同定 >
既報の疾患関連 SNPs のうち 2 種類の SNPs が関与する SFRP4 は、IL-6 アンプの正の制御遺伝子
である可能性があった。そこで、SFRP4 を本疾患において IL-6 アンプを正に制御しうる候補遺
伝子とした。

< デュピユイトラン拘縮における IL-6 活性化の評価 >

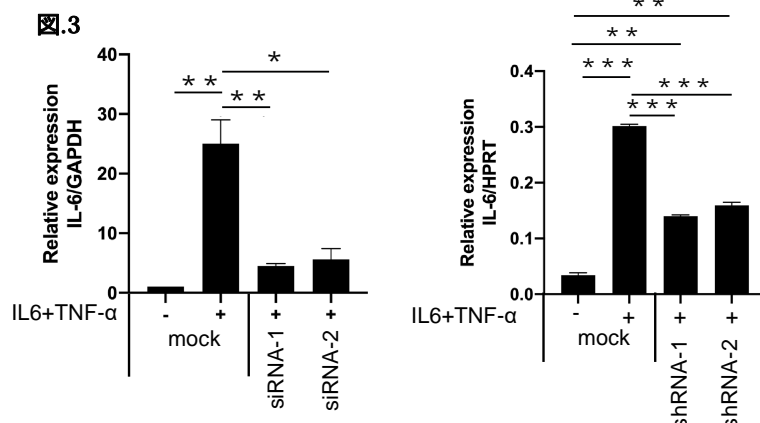
デュピユイトラン拘縮の組織に
おいて NF- κ B と STAT3 の同時活
性化を認めた(図2)。さらにデュ
ピユイトラン拘縮患者由来を含
む初代培養線維芽細胞において
NF- κ B と STAT3 を共刺激すると
IL-6 の過剰発現を認め、IL-6 ア
ンプ活性化が示された(図3)。



< 当院症例における当該
SNPs のリスクアレル頻度、及
び細胞中の SFRP4 発現の評価
>

SFRP4 に関する 2 種類の疾
患関連 SNPs のリスクアレル
頻度は、いずれもデュピユイ
トラン拘縮患者において上昇
していた。さらにデュピユイ

トラン拘縮患者由来の線維芽細胞中の、当該 SNPs のリスクアレル保有例での SFRP4 発現が有意
に上昇していた。



< SFRP4 発現抑制時の IL-6 アンプ活性の評価 >

siRNA、shRNA いずれの手法においても SFRP4 発現抑制細胞における IL-6 アンプ活性の低下を認

めた。

以上から、本疾患における IL-6 アンブの活性化、SFRP4 近傍疾患関連 SNPs のリスクアレル頻度の上昇、SFRP4 による IL-6 アンブ活性の正の制御を示した。また、リスクアレル保有患者において線維芽細胞中の SFRP4 発現は上昇していた。

これらから、当該 SNPs のリスクアレルを保有することで、線維芽細胞を含む非免疫細胞中の SFRP4 発現が上昇し、IL-6 アンブが活性化されやすい状態になることで、デュピュイトラン拘縮発症に関連している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Yuichiro Matsui, Daisuke Kamimura, Daisuke Kawamura, Masaaki Murakami, Norimasa Iwasaki
2. 発表標題 SFRP4 and EPDR1 SNPs in Dupuytren's contracture in a Japanese cohort
3. 学会等名 American Society for Surgery of the Hand 2020 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroaki Kida, Yuichiro Matsui, Ikuko Takahashi, Masaaki Murakami, Norimasa Iwasaki
2. 発表標題 Analysis of disease-associated SNPs and inflammatory mechanisms in Dupuytren's contracture
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2022 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木田 博朗、松井 雄一郎、高橋 郁子、村上 正晃、岩崎 倫政
2. 発表標題 Dupuytren拘縮における疾患関連SNPsと炎症誘導機構の解析
3. 学会等名 第65回日本手外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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	村上 正晃 (Murakami Masaaki) (00250514)	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授 (10101)	

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