

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：32610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791919

研究課題名(和文) 増殖因子を用いた新しい癒痕治療の開発

研究課題名(英文) Evaluation of the utility of growth factors for the treatment of hypertrophic scar

研究代表者

江藤 ひとみ (Eto, Hitomi)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：40612594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：線維芽細胞増殖因子(bFGF)の癒痕治療への有用性を検討することを目標に、線維芽細胞への影響評価を中心に研究を行った。線維芽細胞が性質の異なる不均一な集団であることを考慮し、癒痕形成への関与が異なる線維芽細胞のサブグループをそれぞれ採取し、マイクロアレイやリアルタイムPCRを用いてbFGFの影響を評価した。bFGFは、癒痕への関与が強い深層線維芽細胞に特徴的な遺伝子の発現を下げ、癒痕への関与が弱い浅層線維芽細胞に特徴的な遺伝子の発現を上げた。既知のメカニズムとは異なる方面から、bFGFの癒痕抑制効果が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the utility of basic fibroblast growth factor (bFGF) for the treatment of hypertrophic scar, we investigated the effects on cultured fibroblasts of bFGF. On the basis of the findings that dermal fibroblast is mixed population consisted of some subpopulations having differing characteristics, superficial fibroblasts, which express anti-fibrotic factors, and deep fibroblasts, which express pro-fibrotic factors, were isolated and analysed by microarray and real-time PCR. Basic FGF were elucidated to increase the expression of specific factor for superficial fibroblasts, suggesting enhance the capability of the cells to suppress fibrosis.

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：線維芽細胞 増殖因子 癒痕治療

1. 研究開始当初の背景

熱傷・外傷・手術後などに生じる線維性増殖疾患である肥厚性瘢痕は、整容的・機能的に障害を生じ、患者に身体的のみならず精神的にも苦痛をもたらす。しかし病態については未だ解明に至っておらず、確立した治療法はない。

瘢痕状態には、炎症細胞や表皮細胞も含めた細胞間の相互作用や、機械的刺激などの複数の因子が影響していると考えられるが、いずれの側面からみても、増殖因子の関与は必至であり、時間的・空間的に影響を及ぼし合っていると思われる。

創傷関連増殖因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は瘢痕組織の線維芽細胞を刺激し、適切な組織再構築と優れた整容的改善をもたらすのではないかと考えられる。

bFGFは褥瘡や難治性潰瘍を対象とする外用製剤として臨床で広く使われているため、瘢痕に対するbFGFの影響とメカニズムが判明すれば、新しい瘢痕治療としてすぐに応用できる。

これまでの当研究室での研究から、線維芽細胞は性質の異なる不均一な集団であり、特に真皮浅層と深層とでは遺伝子発現、増殖能が異なることを報告してきた[Kurita M, et al. *Connect. Tissue. Res.* 2012]。線維芽細胞亜集団別に、増殖因子の影響を調べた研究はこれまでにない。

2. 研究の目的

ヒト由来線維芽細胞の解析を行い、bFGFが正常組織や瘢痕組織に与える影響と機序を細胞レベルで詳細に調べることを目的とする。それらの結果を基に、増殖因子の肥厚性

瘢痕や醜状瘢痕への臨床応用につなげることを、最終的な目標とする。

3. 研究の方法

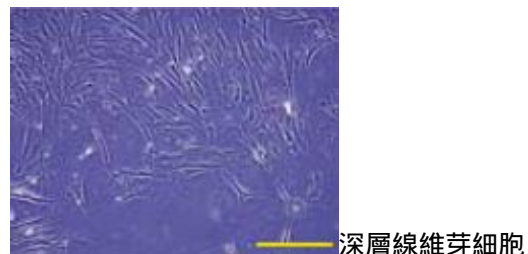
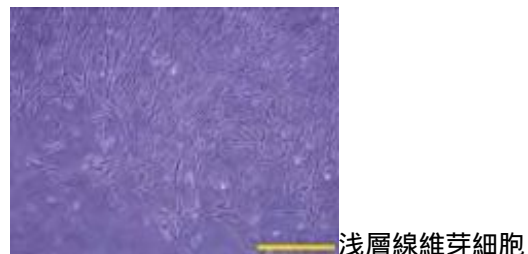
皮膚真皮から、浅層線維芽細胞 (Superficial fibroblast; SF) と (Deep fibroblast; DF) を回収して培養した。それぞれの細胞の遺伝子発現をマイクロアレイで比較評価し、real-time PCR で瘢痕形成への関与を調べた。

正常皮膚および瘢痕組織からそれぞれ採取した SF および DF を培養し、bFGF を添加して影響を評価した。

4. 研究成果

(1) 正常皮膚から回収した SF と DF の比較。

SF は DF よりも細胞の大きさが小さく、増殖速度が速いことを確認した。



また Real-time PCR で、SF は Anti-fibrotic factor (collagenase) の発現が高い一方、DF は Pro-fibrotic factor (1 型 3 型 collagen、 fibronectin 、 transforming growth factor- 、 connective tissue growth

factor) の発現が高いという結果であり、過去の方向と矛盾しないことを確かめた。

そしてマイクロアレイを用いて SF と DF の RNA 発現の違いを調べた。SF と DF で発現が最も異なる因子は、DF の発現が多いのは peptidase inhibitor 16 (PI16)、SF の発現が多いのは adenomatous polyposis coli down-regulated 1 (APCDD1) であった。Real-time PCR で、PI16 は DF が SF の 350 倍、APCDD1 は SF が DF の 91 倍の発現であることを確認した。

(2) 同一患者の正常皮膚と肥厚性瘢痕皮膚から回収した SF と DF の比較。

Real-time PCR による解析で、飛行性瘢痕皮膚は正常皮膚と比較して、SF の PI16 の発現が 77 倍に増加し、APCDD1 の発現が 0.20 倍に低下していた。つまり肥厚性瘢痕組織では、SF の発現パターンが、DF に近くなっていることが示唆された。

(3) 皮膚線維芽細胞に対する bFGF の影響。
培養細胞への bFGF の添加により、SF の PI16 発現が顕著に低下し、APCDD1 の発現が 51 倍に増加した。つまり bFGF は Anti-fibrotic である SF の性質を強くすることが示唆された。既知のメカニズムとは異なる方面から、bFGF の瘢痕抑制効果が示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

(1) 第 22 回日本形成外科学会基礎学術集会、
マイクロアレイを用いた真皮浅層線維芽細胞と深層線維芽細胞の比較解析、
江藤ひとみ、栗田昌和、菅浩隆、栗田恵里奈、
佐藤卓士、大浦紀彦、多久嶋亮彦、波利井清紀

〔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

江藤 ひとみ (ETO, Hitomi)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：40612594

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし