

京都大学	博士 (医学)	氏 名	池 田 実 香
論文題目	Elastic fiber assembly is disrupted by excessive accumulation of chondroitin sulfate in the human dermal fibrotic disease, keloid. (ケロイドにおける、コンドロイチン硫酸の過剰蓄積による弾性線維沈着の阻害)		
(論文内容の要旨)			
ケロイドはヒト特有の疾患で、微細な外傷後に発生する良性線維性皮膚腫瘍である。発赤・疼痛・掻痒を伴い、もとの傷を超えて拡大する特徴を有するが、その成因や病態は分かっていない。根治療法がなく、ステロイドの局所注射等の対症療法が試みられるが、中止すると再発する。また、外科的切除と放射線照射の併用が効果的ではあるが、再発をみることもあり、治療に難渋する疾患である。皮膚の主要な細胞外マトリックスは、コラーゲン、グリコサミノグリカン（G A G）、弾性線維であることが知られている。ケロイド病変部では、コラーゲンやG A Gの過剰蓄積、弾性線維の消失・減少が報告され、I・III・VI型コラーゲンの過剰蓄積が知られているが、G A Gや弾性線維の異常に関する詳細は不明である。そこで、ケロイド病変部におけるG A Gと弾性線維に着目して詳細に検討した。 弾性線維は、フィブリリン-1（FBN-1）をはじめとするミクロフィブリルを足場として、エラスチン等の蛋白が沈着することにより構成される。その詳細はいまだ解明されていないが、近年、DANCE（f i b u l i n-5）がエラスチンのミクロフィブリルへの沈着に重要であり、弾性線維形成に必須であることが報告されている。そこで、ケロイド病変部において、エラスチン、FBN-1、DANCEの発現および局在を免疫組織学的染色にて検討した。エラスチンとDANCEの沈着量が少なく、FBN-1は沈着を認めるも太く不整な形態を示した。また、これらの遺伝子発現を確認するため、ケロイド病変部よりトータルRNAを抽出し、RT-PCRを実施したところ、欠損や発現低下を示すものは認められず、遺伝子発現レベルの問題ではなく、異常なミクロフィブリルに、エラスチンやDANCEが正しく沈着できないことに起因する可能性が示唆された。 次にGAGは、二糖の繰り返し構造を有する多糖類で、コンドイチン硫酸（CS）、ケラタン硫酸、ペパラン硫酸／ヘパリン、ヒアルロン酸に分けられる。ケロイド病変部でのGAGに対して、酵素処理による組織染色と高感度質量分析計（HPLC）を用いた定量分析を行ったところ、最も大量に存在するのはCSであり、正常皮膚の6．9倍量であった。CSのサブタイプ中、ケロイド病変部ではCSA／Cが正常皮膚の12．1倍、CSBは5．1倍過剰に存在することが判明した。これまで、冠動脈バルーン損傷後の再狭窄病変や、ハーラー病患者皮膚由来線維芽細胞等において、CSの過剰蓄積が弾性線維形成を阻害することが報告されている。そこで、ケロイド由来線維芽細胞に対するCSの影響を調べた。ケロイド由来線維芽細胞は、i n v i t r oで弾性線維を構築するが、CS添加により濃度依存性に弾性線維形成は阻害され、サブタイプ別ではCSBが最も抑制効果が強かった。また、複数のサブタイプを組み合わせて添加することで抑制効果が高まった。以上のことから、ケロイド病変部に過剰蓄積するCSは、弾性線維の構築を阻害する点で、ケロイドの病態に関与する可能性が示唆された。過剰なCSを減じる治療は、隆起・硬化した病変部の減量効果だけでなく、弾性線維の正常な再生を促し、新たな治療効果に繋がるものと考えられた。			

(論文審査の結果の要旨) ケロイドはヒト特有の良性皮膚線維性腫瘍である。ケロイドの特徴である細胞外マトリックスの異常において、弾性線維の欠損とGAGの過剰蓄積に着目した。ケロイド組織において、免疫組織学的染色により弾性線維形成の足場となるFBN-1の沈着異常と弾性線維形成に必須の蛋白であるDANCEとエラスチンの沈着減少が見られた。RT-PCRによる弾性線維構成分子の遺伝子発現では、欠損や減少は見られず、弾性線維の形成過程に障害がある可能性が示唆された。また、アルシアンブルー染色とHPLCにより、ケロイド組織に過剰に蓄積するGAGがCSであり、サブタイプ別には、軟骨等に多く皮膚には少ないCSA／CとCSBが過剰に蓄積していることを見出した。次いで、i n v i t r oでケロイド由来線維芽細胞にCSを添加したところ弾性線維形成が阻害された。これらのことより、ケロイド組織での過剰なCSが弾性線維の形成を阻害し、ケロイドの病態に関与している可能性が示唆された。 以上の研究はケロイドの病態の解明に貢献し新たなケロイドの治療の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成22年8月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
