

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	石 河 利 広
論文題目	Chondroitinase injection improves keloid pathology by reorganizing the extracellular matrix with regenerated elastic fibers (過剰プロテオグリカンの分解酵素処理による弾性線維再生および細胞外マトリックス再編成を介したケロイド病態の改善)		
(論文内容の要旨)			
ケロイドは、ヒト特有の疾患で、創傷を契機に発生する線維性皮膚疾患である。もとの傷を超えて拡大する増殖性の特徴を有するが、その発症機構はいまだ明らかにされていない。硬化・発赤・疼痛・掻痒などの症状による苦痛を伴うが、根治療法はない。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一定の効果を示すが、再発をみることもあり、難治療性の疾患である。このため、ケロイドの新規治療法の開発が重要な課題となっている。 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(GAG)、弾性線維である。弾性線維は、elastin、fibrillin-1、DANCE(別名 fibulin-5)などの複数の分子により構成され、皮膚の伸縮性やしなやかさを保つために重要である。ケロイド病変部では、これらの皮膚主要細胞外マトリックスに異常が見られ、Ⅰ・Ⅲ・Ⅵ型コラーゲンや GAG の過剰蓄積、弾性線維の消失・減少が生じている。病変部に過剰蓄積している GAG の種類はコンドロイチン硫酸（CS）であり、そのサブタイプは、CS-A/C、CS-B である。これらの CS は、患部に過剰蓄積することにより、弾性線維の形成を阻害して、病変部の硬化を伴うケロイドの病態形成を促進させる。そこで、本研究では、これらの CS を分解する酵素であるコンドロイチナーゼ ABC に着目し、本酵素のケロイド治療薬としての有効性を検討することとした。 インフォームドコンセントを得た患者（17～75 歳 3 名）から手術時に摘出したケロイド病変部より、5 mm 角の組織片を切り出した。ヌードマウス（Balb/c nu/nu, 5～6 週齢オス）の背部左右 1 箇所ずつに切開を入れ、同部に移植片を縫合固定した。移植片 1 個につき、移植片底面と移植母床に anchoring suture を施し、移植片が動かないよう固定した。移植片が生着したことを確認後、左右移植組織片の 1 方にはコンドロイチナーゼ AB 溶液 10 μ L（コンドロイチナーゼ ABC50mU, 0.1%BSA, 20mM Tris-HCl 溶液）を、もう片方には溶解 buffer 液（対照群）を、1 週間ごとに 3 回注射した。移植後 35 日で移植組織片を取り出し、10 組織片の重量測定を実施した。18 組織片を 4 %パラフォルムアルデヒドで固定後、パラフィンブロックを作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色、エラスチカ・ワンギーゾン（EVG）染色を実施した。14 組織片に対して抗 Elastin 抗体、抗 Fibrillin-1 抗体による免疫組織学的染色を実施した。 その結果、コンドロイチナーゼ ABC 投与群の方が、buffer 投与群と比較して肉眼的に縮小し、重量も有意に減少した。また、コンドロイチナーゼ ABC 投与群では EVG 染色上、弾性線維の再生が認められ、この点は抗 Elastin 抗体、抗 Fibrillin-1 抗体による免疫組織染色においても確認された。したがって、注射したコンドロイチナーゼ ABC は、過剰な CS を分解除去し、隆起・硬化した病変部			

の減量効果をもたらすと同時に、弾性線維の再生を促して、皮膚組織の正常化に寄与したものと考えられる。よって、コンドロイチナーゼ ABC の新規ケロイド治療薬としての有効性が強く示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

ケロイドは、ヒト特有の疾患で、創傷を契機に発生する線維性皮膚疾患である。もとの傷を超えて拡大する特徴を有するが、その発症機構はいまだ不明の難治性疾患である。このため、新規治療法の開発が重要な課題である。

ケロイド病変部では、皮膚細胞外マトリックスに異常が見られる。コンドロイチン硫酸（CS）は、患部に過剰蓄積し、弾性線維の形成を阻害して、病変部の硬化を伴うケロイドの病態形成を促進させる。そこで、CS を分解する酵素、コンドロイチナーゼ ABC に着目し治療薬としての有効性を検討した。

手術時に摘出したケロイド組織片をヌードマウスの背部左右に移植した。一方にはコンドロイチナーゼ ABC 溶液を、もう片方には溶解 buffer 液（対照群）を、1 週間毎 3 回注射し、移植後 35 日で取り出した。コンドロイチナーゼ ABC 投与群の方が、buffer 投与群と比較して肉眼的に縮小し、重量も有意に減少した。また、コンドロイチナーゼ ABC 投与群ではエラスチカ・ワンギーゾン染色上、抗 Elastin 抗体、抗 Fibrillin-1 抗体による免疫組織染色上、弾性線維の再生が認められた。コンドロイチナーゼ ABC は、過剰な CS を分解除去し、隆起・硬化した病変部の減量効果をもたらすと同時に、弾性線維の再生を促して、皮膚組織の正常化に寄与したものと考えられる。よって、コンドロイチナーゼ ABC の新規ケロイド治療薬としての有効性が強く示唆された。

以上の研究はケロイドの病態解明に貢献し新規治療薬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 2 5 年 4 月 2 3 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。