

【背景】

ケロイドは皮膚の線維増殖性疾患である。その病態は徐々に明らかになりつつあるが、未だ解明されていない部分が多い。創傷部位に種々の原因で炎症が持続し、トランスフォーミング増殖因子 (TGF β -1) をはじめとする様々な成長因子やサイトカインが影響し、細胞外マトリックス (ECM)の過剰産生および ECM の蓄積と分解のバランスの不均衡が生じる。ECM の蓄積と分解には、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) とその抑制因子である組織メタロプロテアーゼ阻害物質 (TIMPs) の不均衡が関与している可能性がある。われわれは、この不均衡を是正することを目的として、ケロイドに対する局所遺伝子治療あるいは局所投与できる薬剤の開発・研究を行っている。

われわれは以前 TIMP-2 をノックダウンしたヒトケロイド由来線維芽細胞においてコラーゲン産生が上昇することを報告した。しかし、同一個体内でのケロイドと正常皮膚における TIMP-2 の遺伝子発現の差異は判明していない。そのため今回、患者のケロイド由来線維芽細胞 (KFs)および同一患者の正常皮膚由来線維芽細胞 (PNFs)を用いて、MMPs、TIMPs の遺伝子発現量を比較検討し、またケロイドで炎症が持続する原因の一つと考えられている機械的刺激 (伸展刺激) に対する反応性をあわせて解析した。その上でリコンビナントヒト TIMP-2 タンパク (rhTIMP2) を、*in vitro*での KFs、*ex vivo*で培養したケロイド組織に投与し、効果を検討した。

【方法】

当院にて手術時に摘出され廃棄されたケロイド組織と、同一患者の縫合時に創の両端で隆起し (ドッグイヤー) 整容目的で切除され廃棄された正常皮膚より KFs と PNFs をそれぞれ分離・培養し、リアルタイム RT-PCR と ELISA を用い、MMPs および TIMPs の mRNA 発現量および TIMP-2 のタンパク量を比較解析した。また KFs において伸展培養装置を用い、伸展刺激 (72 時間、1 回 / 100sec、20%) に対する遺伝子発現の変化をリアルタイム RT-PCR にて解析した。さらに、KFs に対して rhTIMP-2 を投与し、リアルタイム RT-PCR および ELISA を用い、コラーゲン (COL) の mRNA 発現量および生成量の変化を解析し、線維芽細胞の活性化を表す α 平滑筋アクチン (α SMA) および線維化疾患の治療指標の一つである TIMP-1/MMP-1 比を計測した。*Ex vivo* ケロイド組織培養では、TIMP-2 投与による組織学的変化を解析した。

【結果】

PNFs に比較して KFs では TIMP-2 の遺伝子発現および産生タンパク量の有意な低下を認め、伸展刺激によって更なる TIMP-2 の発現低下を認めた。生体内における TIMP-2 の濃度は 10~220ng/ml の範囲であり、今回 KFs に対する rhTIMP-2 投与実験では、100, 200, 300ng/ml の濃度を用いた。その結果、200 および 300ng/ml の rh TIMP-2 投与により、濃度依存性に COL1A2 および COL3A1 の有意な発現低下を認め、ELISA により COL1 の生成量 (PIP) の有意な減少も確認した。また α SMA の発現低下および TIMP-1/MMP-1 比の上昇を認めた。*Ex vivo* ケロイド組織培養において、200ng/ml rhTIMP-2 の投与でケロイド真皮およびコラーゲン束の厚さの減少が認められた。

【考察】

今まで同一個体内におけるケロイド組織と正常皮膚組織での TIMP-2 の発現の差は解析されてこなかったが、今回 KFs において、TIMP-2 の発現は低下していることが判明した。TIMP-2 は Membrane-type1-MMP (MT1-MMP) を含む MMPs の阻害作用があり、MT1-MMP は pro-TGF β を活性化する作用を持つ。ケロイドにおいては TGF β -1 が高発現しており、active TGF β -1 によって α SMA は発現上昇し、TIMP-1/MMP-1 比は低下するが、200ng/ml rhTIMP-2 投与によって、両者ともを改善できることが示された。TIMP-2 の MT1-MMP の阻害作用が、ケロイド線維芽細胞および *Ex vivo* ケロイド組織培養における効果である可能性を考えた。本研究において、*in vitro* で培養した KFs および *ex vivo* で培養したケロイド組織において rhTIMP2 が COL の合成を低下させ、TIMP-1/MMP-1 を是正でき COL の蓄積を減少できることが判明した。

【結論】

今回の研究によって①KFs において、ECM の分解に関与する MMPs を阻害する TIMP-2 が発現低下していることが判明し、②その投与により *in vitro* で培養した KFs や *Ex vivo* で培養したケロイド組織においてもコラーゲンの生成、蓄積を抑制されることが明らかとなり、ケロイドの有効な保存的治療を開発できる可能性が示唆された。