

## 論文審査の結果の要旨

# Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) suppresses collagen synthesis in cultured keloid fibroblasts

ケロイド線維芽細胞への TIMP-2 投与によるコラーゲン生成抑制効果の検討

日本医科大学大学院医学研究科 形成再建再生医学分野

大学院生 土肥 輝之

Plastic and Reconstructive Surgery Global Open

ケロイドは、皮膚の創傷治癒過程の異常で生じる、線維増殖性疾患である。真皮網状層に生じる炎症が原因で、物理的刺激が悪化要因の一つであるという病態が徐々に明らかになりつつあるが、まだ不明な点も多く、治療に難渋している。動物の皮膚では、長期間にわたって持続する炎症を作成できないため、適切な動物モデルがまだ開発されていないことも、研究が困難な理由の一つである。

本研究では、細胞外マトリックスの蓄積と分解に関与する、トランスフォーミング増殖因子 (TGF $\beta$ -1) と、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs)、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) の不均衡に着目した。当教室では細胞外マトリックスの蓄積と分解の不均衡を是正するための、遺伝子治療や薬物治療の可能性を検討してきた。

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が、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物理的刺激 (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。その結果、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。

第二次審査においては、結果が明瞭で、TIMP-2 に着目したというオリジナリティーが高く、臨床に応用可能な研究であるという高評価を得た。実験の方法について、ケロイド由来の線維芽細胞を培養した場合、継代を重ねるごとにその特性が失われていくことが知られているが、この実験ではどうであったかとの質問に対し、コントロールとともに継代数を揃えて比較検討しており問題はないとの回答であった。また、投与した TIMP-2 の半減期については臨床応用の際に投与回数に影響するため、今後検討しておく方が良いとの意見があった。また、コラーゲンの生成量で PIP を計った理由として分解に影響されない純粋な生成量を計測するためのものであり、また MMP-1 と TIMP-1 の比を計算している理由は、抗線維化治療における一つの指標として使用されているものであり、現時点ではコラーゲンの純粋な分解量を定量することが困難であるとの回答が得られた。また強皮症とケロイドは皮膚の線維化疾患との共通点があるが、何が異なるかとの質問に対し、強皮症は自己免疫疾患であり、炎症の生じる部位が皮下から真皮の深層であるのに対し、ケロイドの場合は、真皮の網状層を中心とした炎症であるとの答弁がなされた。また、TIMP-1 ではなく TIMP-2 に着目した理由としては、臨床応用を考えた際、TIMP-1 を低下させようとする遺伝子治療を行わねばならないのに対し、TIMP-2 の場合、リコンビナントタンパクを投与することで治療効果を得られる可能性があり、臨床応用へのハードルが低くなるためであると回答された。

このように本研究はケロイドの病態解明に留まらず、複雑な創傷治癒過程の機序解明の一助となる可能性があり、大変発展性のある研究であることが確認された。また、ケロイドだけではなく、いかなる外科手術の後でも、ケロイドや癬痕の予防として TIMP2 製剤が使用できる可能性が示唆され、臨床的にも画期的な研究であるという結論がなされた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。