

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16979

研究課題名（和文）毛包由来間葉系細胞の混合移植による毛髪再生

研究課題名（英文）Hair regeneration by dermal papilla and sheath cells construct

研究代表者

金山 幸司（Kanayama, Koji）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40612601

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトまたはマウス由来の毛乳頭細胞と真皮毛根鞘細胞を混合し、それぞれ3種類（細胞懸濁液・細胞シート・細胞凝集塊）の移植形態（コンストラクト）を作製した。各コンストラクトの特性を遺伝子発現解析や動物実験などにより比較したところ、移植細胞のコンストラクトを細胞シートや細胞凝集塊に調製することで毛包誘導能が増強することを確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞を利用した毛髪再生治療の確立のためには、細胞の移植法の最適化が必須である。本研究において、従来の方法である細胞懸濁液よりも毛包誘導能の観点から細胞シートや細胞凝集塊に加工した後に移植する方法が有効であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Human- or murine-derived dermal papilla cells and dermal sheath cells were mixed to prepare three kinds of cell construct (cell suspension, cell sheet, and cell aggregate). Comparative study of these constructs by gene expression analysis and animal experiments confirmed that hair inductive capacity of transplant cells was enhanced in the form of cell sheet and cell aggregate compared to cell suspension.

研究分野：形成外科学

キーワード：毛髪再生 毛乳頭細胞 毛根鞘細胞 再生医療 細胞移植

1. 研究開始当初の背景

脱毛症は外傷や化学療法など様々な原因により毛根に障害が生じて毛密度が減少する疾患で、患者の整容上の問題やQOL（生活の質）の低下を引き起こす。障害された毛根および喪失した毛髪を回復させる根治的な治療法を開発するために、毛包（＝毛髪を産生する皮膚付属器官）に存在する間葉系細胞である「毛乳頭細胞」を利用した毛髪再生の研究が世界中で試みられている。

2. 研究の目的

臨床応用可能な毛髪再生治療を確立するために、毛包に存在するもう一つの間葉系細胞である「真皮毛根鞘細胞」の中に真皮幹細胞等をはじめ未分化な細胞が多く存在することに着目し、この真皮毛根鞘細胞を毛乳頭細胞に混合することで毛包再構築能を向上させた後、その混合細胞塊を適切な方法で移植することにより毛髪再生を実現する。

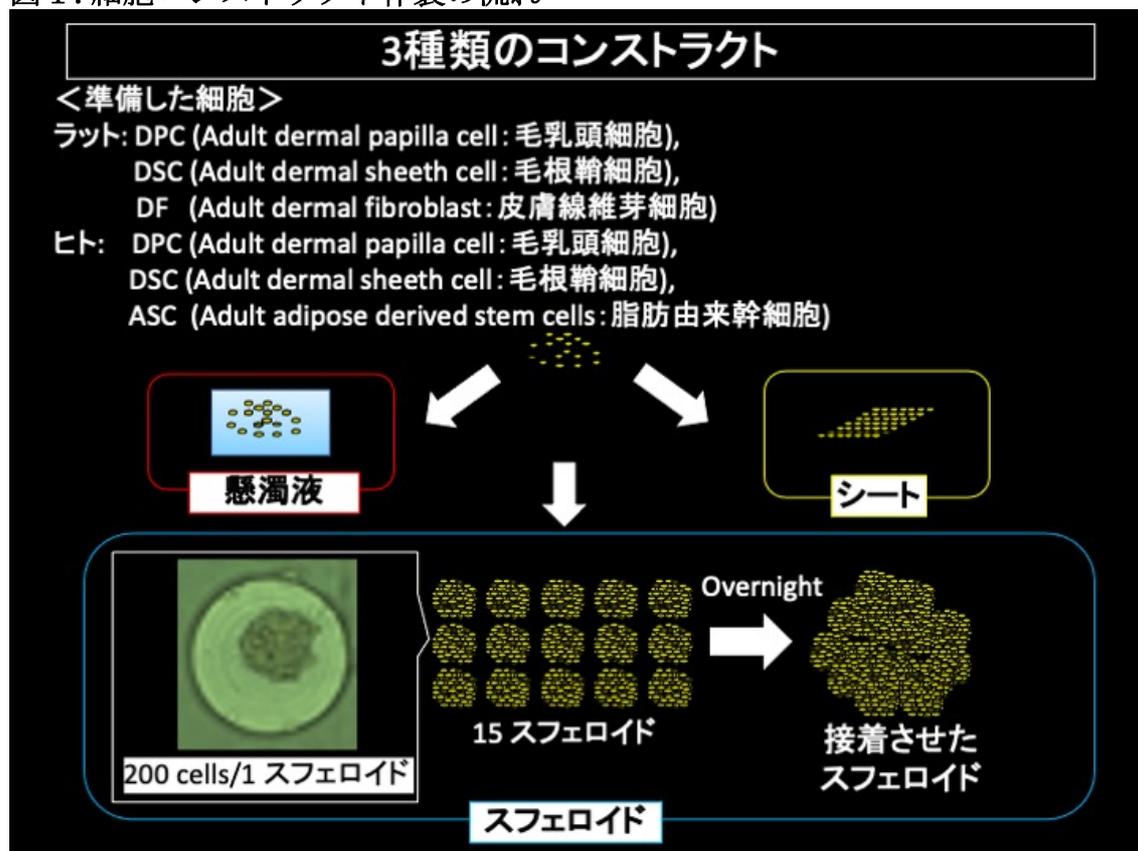
3. 研究の方法

ヒトまたはラット由来の毛包由来間葉系細胞（毛乳頭細胞(DPC)・真皮毛根鞘細胞(DSC)）を単離し、三種類の細胞移植形態（細胞懸濁液・細胞シート・細胞凝集塊）を作製する。In vitroでは各移植形態細胞群より tRNA を抽出・精製し、逆転写反応により cDNA を合成する。リアルタイムPCRを行い、毛包誘導能関連遺伝子 (*ALP*, *TGFβ2*, *WNT10B*) の mRNA 発現量を解析する。In vivoではシリコンチャンバーアッセイによる毛包誘導実験を行う。各移植形態細胞群をヌードマウスの背部に移植し、再生毛包の組織学的評価を行う。

4. 研究成果

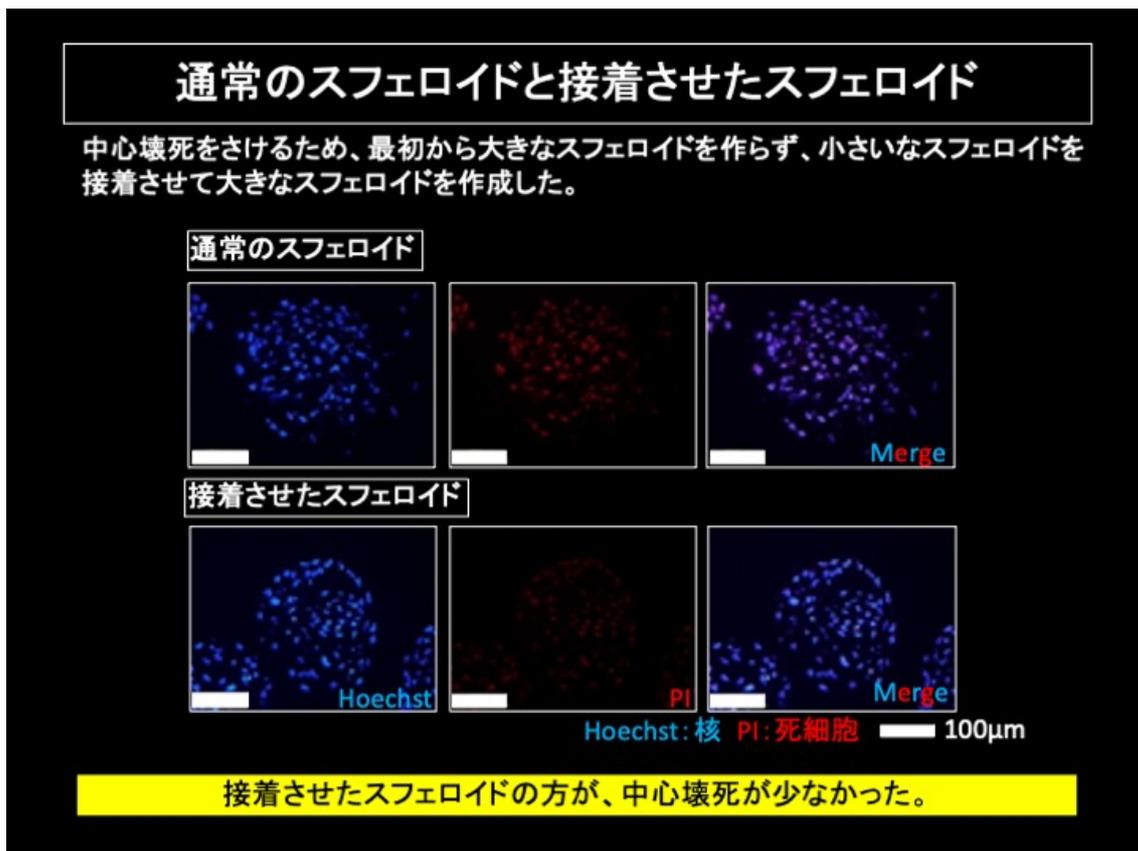
ヒトの毛髪およびラット髭の毛包に由来する間葉系細胞を単離し、培養にて増幅した。各種の細胞を用いて三種類の細胞移植形態（細胞懸濁液・細胞シート・細胞凝集塊）を作製した（図1）。

図1. 細胞コンストラクト作製の流れ



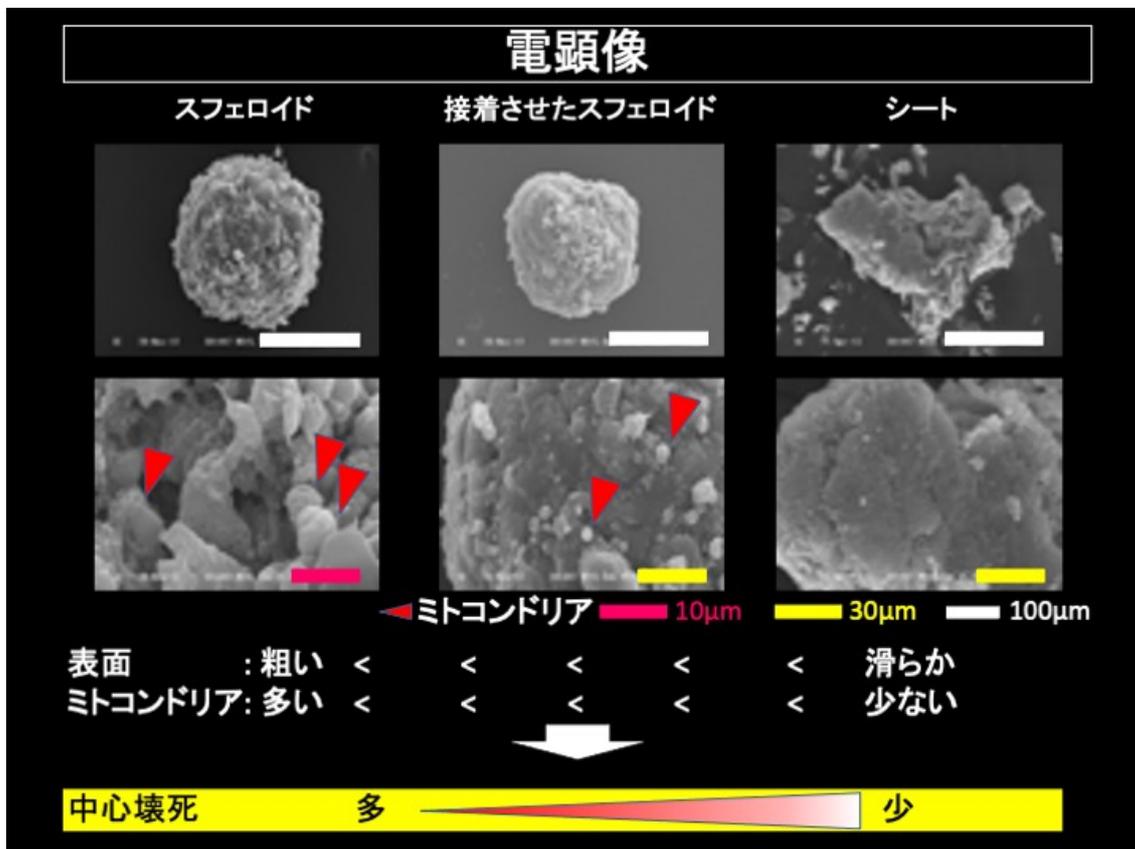
細胞凝集塊（スフェロイド）の作製においては中心壊死を避けるため、まずサイズの小さいスフェロイドを作製してから多段階にサイズを大きくした（図2）。

図 2. 細胞凝集塊に観察される中心壊死



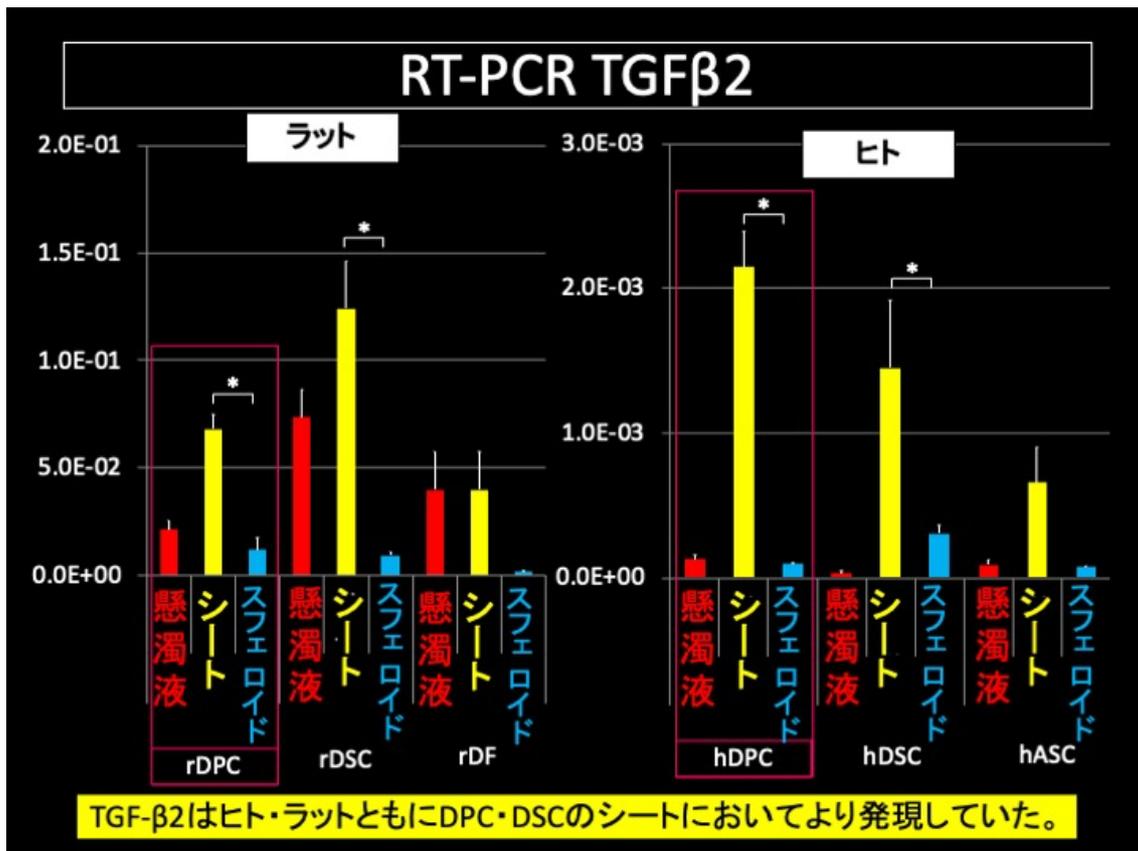
コンストラクトの形態的な特徴として、細胞シートは表面が滑らかでミトコンドリアが少ない一方で、細胞凝集塊は表面が粗くミトコンドリアが多く観察された (図 3)。

図 3. 細胞凝集塊と細胞シートの形態 (電子顕微鏡像)



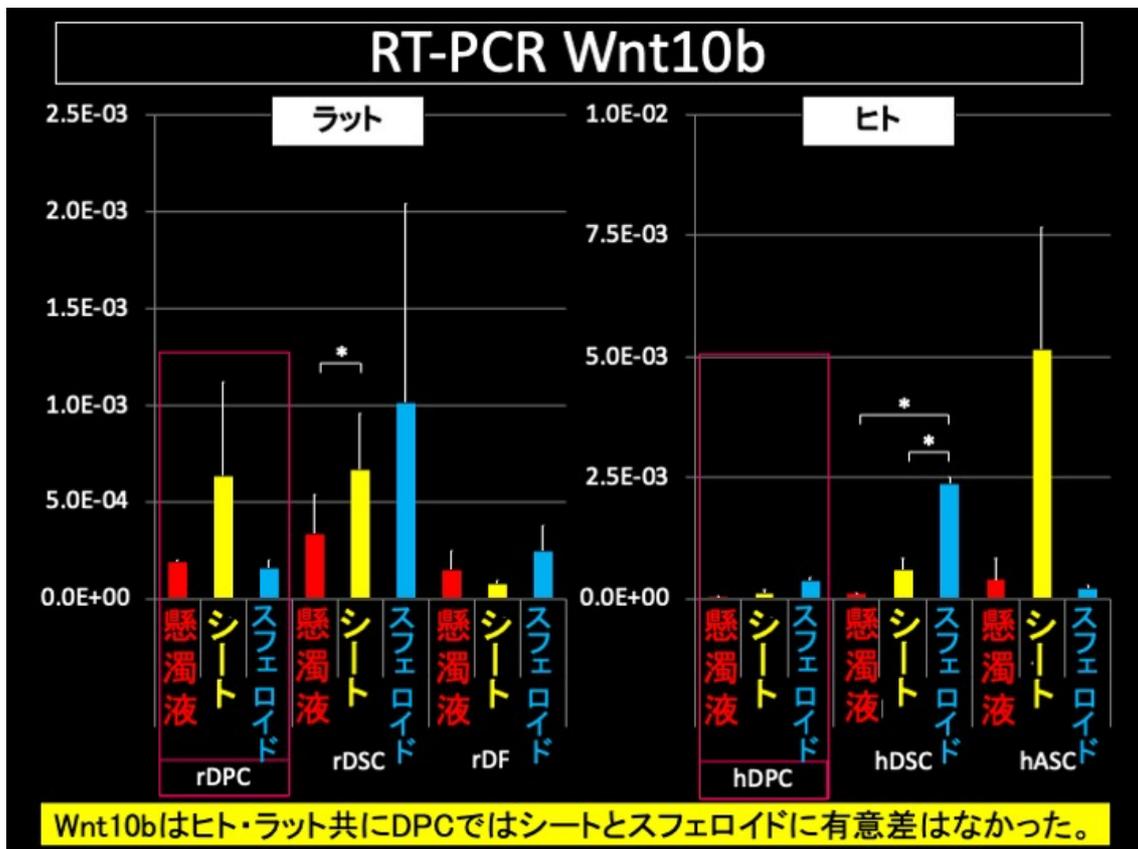
TGFB2 の発現は、ラットおよびヒト両方において、DPC と DSC 共に他のコンストラクトと比較して細胞シートが有意に高かった (図 4)。

図 4. TGFB2 の発現



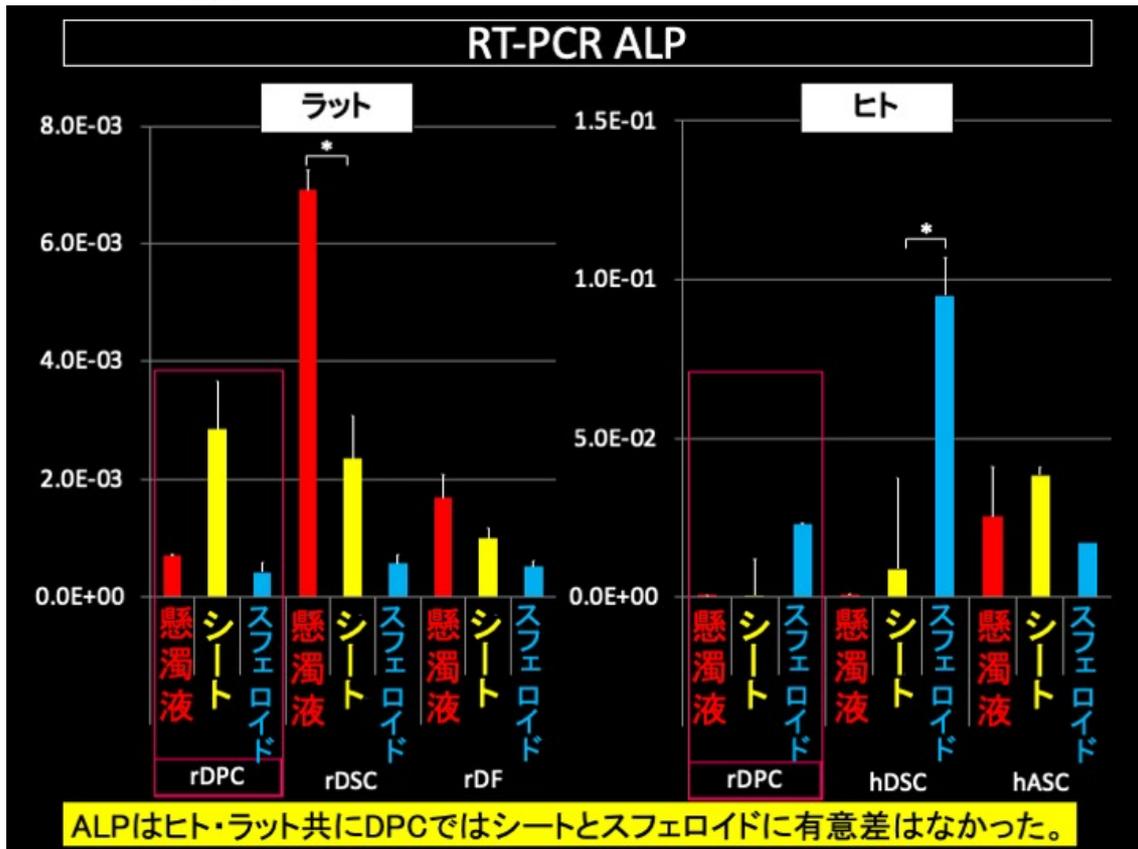
Wnt10b の発現は、ヒト・ラット、DPC・DSC のいずれでも細胞シートとスフェロイドに差が認められなかった (図 5)

図 5. WNT10B の発現



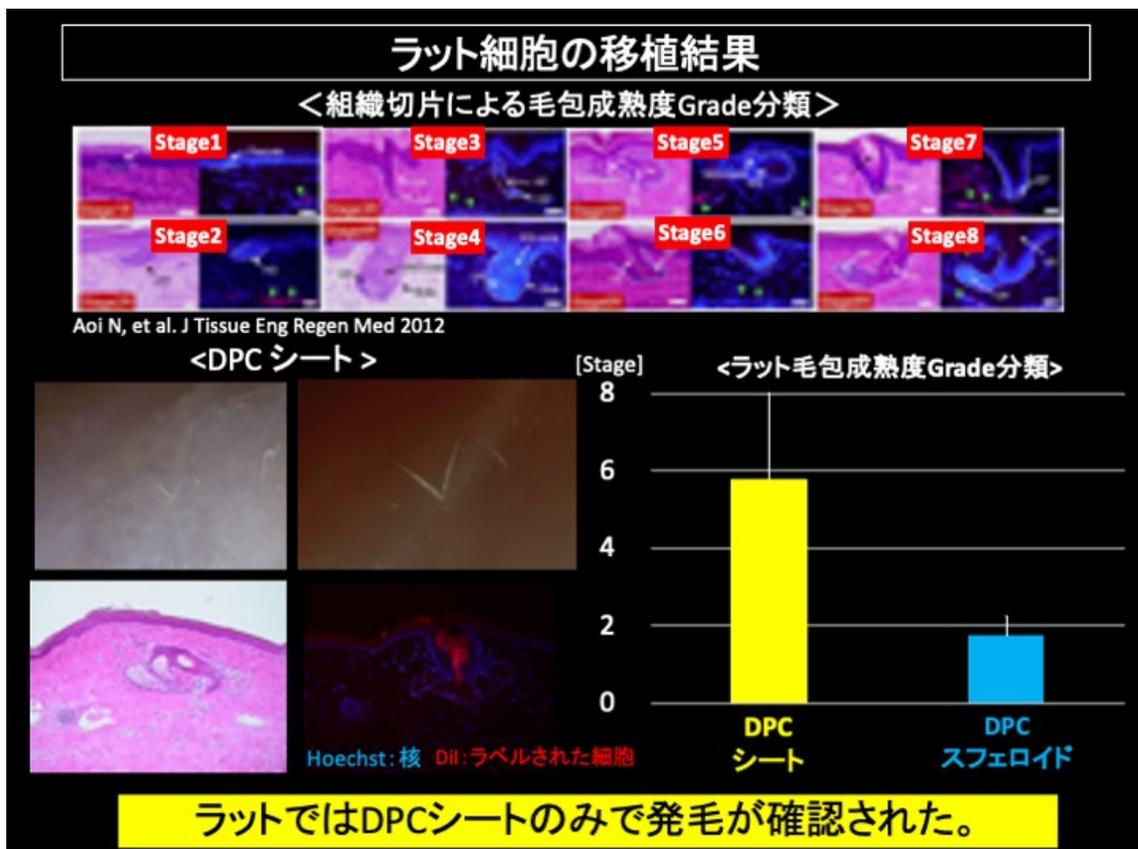
ALPの発現は、ヒト・ラット、DPC・DSCのいずれでも細胞シートとスフェロイドに差が認められなかった(図6)。

図6. ALPの発現



移植実験では、目に見える発毛が、ラット DPC シート移植のみで確認された。ヒト細胞やスフェロイドでは組織学的に未成熟な毛包が認められた(図7)。

図7. 毛包誘導実験の結果



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Moriwaki Y, Tomioka Y, Imai H, Iida T, Yamashita S, Kanayama K, Iwamoto N, Okazaki M	4. 巻 7
2. 論文標題 Treating Pulsatile Exophthalmos in Child with Minimally Invasive Approach and Custom-made Titanium Mesh Plate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plast Reconstr Surg Glob Open	6. 最初と最後の頁 e2070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/GOX.0000000000002070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Iida T, Yoshimatsu H, Karakawa R, Kanayama K, Harima M, Okazaki M	4. 巻 72
2. 論文標題 Additional venous anastomosis in free profunda artery perforator flap transfer using the posterior accessory saphenous vein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Plast Reconstr Aesthet Surg	6. 最初と最後の頁 1936-1941
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bjps.2019.09.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Karakawa R, Iida T, Yoshimatsu H, Kanayama K, Yamasoba T	4. 巻 7
2. 論文標題 Functional and Aesthetic Reconstruction for Microtia Using the Combination of Superficial Circumflex Iliac Artery Perforator Superthin Flap Transfer and Skin Grafting	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plast Reconstr Surg Glob Open	6. 最初と最後の頁 e2312
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/GOX.0000000000002312	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 金山幸司, 加藤晴之輔, 森正徳, 高比史代, 栄由貴
2. 発表標題 植毛術における移植床の自動スリット作成システム
3. 学会等名 第62回日本形成外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金山幸司, 加藤晴之輔, 高比史代, 森正徳, 栄由貴
2. 発表標題 植毛術におけるロボット技術と人工知能の導入
3. 学会等名 第42回日本美容外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯田拓也, 松原健, 服部貴統, 金山幸司, 岡崎睦
2. 発表標題 遊離空腸を用いた胸部食道再建
3. 学会等名 第62回日本形成外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木山麻衣子, 金山幸司, 盧率智, 服部貴統, 大場純, 飯田拓也, 牛久哲男, 岡崎睦
2. 発表標題 歩行障害と排尿障害を呈した外陰部巨大脂肪腫症の治療経験
3. 学会等名 第62回日本形成外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hattori Y, Iida T, Kanayama K, Okazaki M
2. 発表標題 Skull base reconstruction using free flap following extended tumor ablation: a retrospective study of 45 cases
3. 学会等名 88th Annual Plastic Surgery The Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗田昌和, 加藤基, 金山幸司, 御任大輔, 岡崎睦
2. 発表標題 皮膚潰瘍に対する新しい治療法の開発
3. 学会等名 第28回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤基, 御任大輔, 金山幸司, 栗田昌和, 岡崎睦
2. 発表標題 自家製シリコンチャンパーを用いたin vivo毛包誘導能評価系の確立
3. 学会等名 第28回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関