

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591310

研究課題名 (和文) (試験管内) ヒト毛包再生法の確立

研究課題名 (英文) Reconstitution of human hair follicles in vitro.

研究代表者

荒瀬 誠治 (ARASE SEIJI)

徳島大学・大学院ヘルパバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：90108887

研究成果の概要：

既に我々は、男性型脱毛部 (AGA) と正常部からの毛乳頭細胞 (DPC) 間での遺伝子発現の差を検討し、AGA部では毛包細胞の増殖を促進させる ephrin A3 の発現が抑制されていることを見出したが、その後、生直後マウス皮膚で ephrin A群の発現をPCR法と免疫組織化学法で調べ、ephrin A1～A3が生長期に一致して発現が亢進するが、休止期直前には発現しなくなり、次の生長期に再び急激に亢進する事を見出した。そして、誕生直後のマウス皮下に ephrin A3蛋白を注入すると毛包数が増加する事も見出した。そしてエフリン群の作用機序も解明し発表した (詳しくは研究成果参照)。その後、Zheng Yらの方法を用いて、毛包形成と ephrinA群-Wnt系シグナルの関係をみたところ、密な関係を見出した (投稿準備中)。

一方、アデノシンが DPC に働き、FGF7 の産生を促進する事、毛乳頭細胞そのものの増殖も促す事を見出し報告した。これらの結果を基に、トランスレーショナル研究の一環として、アデノシン含有育毛剤を開発し市場に提供した。そしてその製品が男性型脱毛のみならず、女性の脱毛症にも効果がある事を確かめ報告した (研究成果参照)。

また、コルネオデスモシン遺伝子をノックアウトし、コルネオデスモシンの皮膚や毛包形成に及ぼす影響を調べ、その役割についても推測した (研究成果参照)。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚生理学

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

我々はヒト皮膚付属器の細胞を培養し [脂腺: Arch Dermatol Res. 288, 1996] [爪: J Dermatol. 22 1995] [汗腺: J Dermatol. 20, 1993] [毛包: J Dermatol Sci 2, 1991]、それらを用いて付属器形成過程における表皮-真皮相互作用 (Ann N Y Acad Sci. 642, 1991)、付属器形成因子の探索 (Skin Pharmacol. 7, 1994)、毛母細胞増殖因子の探索 (J Dermatol Sci. 2. 1991) 等を行ってきた。近年、毛包形成には ephrin-ephrin 受容体シグナルが非常に重要な役割を持つことを見出し [J Dermatol Sci. 36. 2004]、また毛球部で毛母細胞と毛乳頭細胞の接着が少しでも離れると成長期が止まる事より、細胞の直接接着で伝わる因子が正常毛髪分化に必須なことも見出していた [J Dermatol. 17, 1990]。一方、毛乳頭から毛母細胞へ、パラクラインで伝わる増殖因子についても、その作用機序を含め報告してきた (J Invest Dermatol. 117, 2001 and J Dermatol Sci. 36: 2004)。

また、男性型脱毛部 (AGA) と正常部からの毛乳頭細胞 (DPC) 間での遺伝子発現の差を検討し、AGA 部では毛包細胞の増殖を促進させる ephrin A3 の発現が抑制されていることを見出していた [Midorikawa T, 他 J Dermatol Sci. 36. 2004]

我々はまた、ミノキシジルがアデノシン産生促進を介して DPC に作用し血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 産生を促進する事を既に報告していた [Li M, 他. J Invest Dermatol. 117: 1594-1600. 2001]。

以後の研究の背景には以上のような研究結果があった。

2. 研究の目的

1. ephrin 群の毛包形成に及ぼす役割を解明する。

2. アデノシンの毛乳頭細胞に及ぼす影響をあらゆる方法で調べ、その結果を製品開発に結びつける

3. コルネオデスモシンの毛包形成に及ぼす役割を検討する。

3. 研究の方法

1. 生直後マウス皮膚で ephrin A 群の発現を PCR 法と免疫組織化学法で調べ、ephrin A 群蛋白の毛包形成期における時間的・空間的発現変化を見る。

2. 誕生直後のマウス皮下に ephrin 蛋白を注入し、その後の毛包形成に及ぼす影響を見る。

3. アデノシンの毛乳頭細胞に及ぼす影響をあらゆる方法で調べ、その結果を製品開

発に結びつける

4. コルネオデスモシンノックアウトマウスを作り、皮膚や毛包に起こる変化を観察する

4. 研究成果

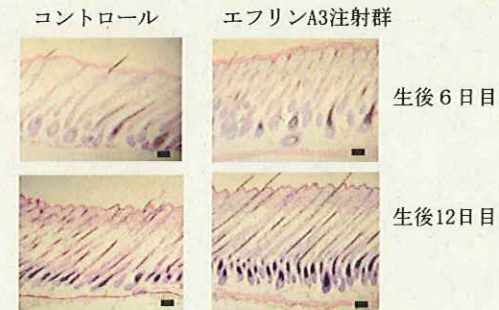
生直後マウス皮膚で ephrin A 群の発現を PCR 法と免疫組織化学法で調べ、ephrin A1~A3 が生長期に一致して発現が亢進するが、休止期直前に発現しなくなり、次の生長期に再び急激に発現する事を見出した。そして、誕生直後のマウス皮下に ephrin A3 蛋白を注入すると完成毛包数が増加し、かつ毛包の分化が促進される事を見出した (下図)。そして、(a) 毛包 (原基) 数は胎児期に決定されるが一部の毛包原基は毛包へと成長しない、

(b) ephrin A3 は毛包原基から毛包への分化を促進させ、毛包数を増加させる

(c) ephrin A 群と、Wnt-b catenin 系の両シグナル伝達には深い関係がある

ことを見出し報告した (Yamada Y, 他: J. Dermatol. Sci. 52, 178-185, 2008)。

毛包形成に及ぼすエフリンA3蛋白の影響



エフリンA3は完成毛包数を増やし、分化も促進する

その後、培養表皮細胞とDPC細胞の混合物をヌードマウスの皮下に注入し毛包形成を確かめ、同部に ephrin 蛋白の直接注入や、Wnt 阻害剤等を同時に使用する事で、いかなる影響が出るかをみており、Wnt 阻害剤の使用で毛包が形成されない事を確かめた (投稿準備中)。

一方、我々は既にミノキシジルがアデノシン産生促進を介して DPC に作用し血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 産生を促進する事を既に報告していた (Li M 他, J Invest Dermatol. 117. 2001)。その後アデノシンそのものも

DPCに働き、現在は keratinocyte growth factor として知られている FGF7 の産生を促進する事、アデノシンは毛乳頭細胞そのものの増殖も促す事を見出し報告した (Iino M, 他, J Invest Dermatol. 127, 1318-1325, 2007)。これらの結果を基に、トランスレーショナル研究の一環として、アデノシン含有育毛剤を開発し市場に提供した。そしてその製品が男性型脱毛のみならず、女性の脱毛症にも効果がある事を確かめ報告した (H. Oura 他, J Derma, 35, 763-767, 2008)。

また、コルネオデスモシン遺伝子をノックアウトすると、マウスの体毛に強い変化が起こり事より、コルネオデスモシンの皮膚や毛包での役割についても述べた (Matsumoto M, 他, Proc Natl Acad Sci USA, 105, 6720-6724, 2008)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① 荒瀬誠治、男性型脱毛症 (androgenetic Alopecia:AGA) の内服療法、総合臨牀、57、2931-2932、2008、無
- ② 荒瀬誠治、男性型脱毛症の治療、Derma、145、61-67、2008、無
- ③ R. Yamamura, N. Nishimura, H. Nakatsuji, S. Arase, T. Sasaki, The interaction of JRAB/MICAL-L2 with Rab8 and Rab13 coordinates the Assembly of Tight Junctions and Adherens Junctions, Mol Bio Cell, 19, 971-983, 2008、有
- ④ M. Matsumoto, Y. Zhou, S. Matsuo, H. Nakaniishi, K. Hirose, H. Oura, S. Arase, Targeted deletion of the murine corneodesmosin gene delineates its essential role in skin and hair physiology, Proc Natl Acad Sci USA, 105, 6720-6724, 2008、有
- ⑤ T. Yamamoto, Y. Saeki, M. Kurasawa, S. Kuroda, S. Arase, H. Sasaki, Effect of RNA interference of tight junction-related molecules on intercellular barrier function in cultured human keratinocytes, Arch Dermatol Res, 300, 517-524, 2008、有
- ⑥ H. Oura, M. Iino, Y. Nakazawa, M. Tajima, R. Ideta, Y. Nakaya, S. Arase, J. Kishimoto Adenosine increases anagen hair growth and thick hairs in Japanese women with female pattern hair loss: A pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled trial, J Derma, 35, 763-767, 2008、有
- ⑦ Y. Yamada, T. Midorikawa, H. Oura, T. Yoshino, M. Ohdera, Y. Kubo, S. Arase, Ephrin-

A3 not only increases the density of hair Follicles but also accelerates anagen Development in neonatal mice, J Dermatol Sci, 52, 178-185, 2008、有

- ⑧ 荒瀬誠治、毛包構造と各種脱毛症、医学の歩み、224、249-253、2007、無
 - ⑨ H. Kishimoto, T. Ohteki, Y. Kubo, S. Arase, The Pten/PI3K pathway governs the Homeostasis of Val4iNKT cells, Blood, 109, 3316-3324, 2007、有
 - ⑩ N. Ohtani, Y. Kubo, S. Arase, et al. Visualizing the dynamics of p21(Waf1/Cip1) cyclin-dependent kinase inhibitor expression in living animals., Proc Natl Acad Sci USA, 104, 15034-15039, 2007 有
 - ⑪ Y. Hida, Y. Kubo, K. Murao, S. Arase, Strong expression of longevity-related protein SIRT1, in Bowen's disease, Arch Dermatol Res., 229, 103-106, 2007 有
 - ⑫ M. Iino, R. Ehama, Y. Nakazawa, T. Iwabuchi M. Ogo, M. Tajima, S. Arase, Adenosine Stimulates Fibroblast Growth Factor-7 Gene Expression Via Adenosine A2b Receptor Signaling in Dermal Papilla Cells, J Invest Dermatol, 127, 1318-1325 2007、有
- [学会発表] (国際学会のみ記載 計3件)
- ① H. Oura, M. Iino, Y. Nakazawa, M. Tajima, R. Ideta, Y. Nakaya, S. Arase, Efficacy of Adenosine on female pattern hair loss and male androgenetic alopecia, International Investigative Dermatology 2008 2008. 5. 15、
 - ② M. Iino, R. Ehama, Y. Nakazawa, T. Iwabuchi M. Ogo, M. Tajima, S. Arase, Adenosine Stimulates Fibroblast Growth Factor-7 Gene Expression Via Adenosine A2b Receptor Signaling in Dermal Papilla Cells, International Investigative Dermatology 2008. 5. 16、
 - ③ D. Fukumoto, H. Oura, M. Saito, S. Arase, Lipodystrophia centrifugaris of the scalp presenting with arch-form alopecia -8 year followup study-, 5th International Congress of Hair Research, 2007. 6. 14、

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒瀬 誠治 (ARASE SEIJI)

徳島大学・大学院ヘルスパイサイエンス研究部・教授

研究者番号：90108887

(2) 研究分担者

大浦 一 (OURA HAJIMU)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・講師

研究者番号：20284284

広瀬 憲志 (HIROSE KENJI)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・医員

研究者番号：40437653

(3) 連携研究者

大浦 一 (OURA HAJIMU)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・臨床教授

研究者番号：20284284

広瀬 憲志 (HIROSE KENJI)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：40437653