

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03813

研究課題名（和文）細胞系譜直接転換による毛髪新生誘導法の開発

研究課題名（英文）Development of hair follicles regeneration with direct conversion of cell lineage

研究代表者

岡崎 睦（OKAZAKI, MUTSUMI）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：50311618

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：強い皮膚へのダメージによって毛髪の失われた皮膚において、新たに毛髪を再生させる方法を開発するために、培養細胞に対して遺伝子導入を行うことによって、本来毛髪にならない細胞に毛髪をつくる能力を与える方法を開発した。さらに生きた動物の皮膚に対して、臨床的に実用可能な方法でこの技術を応用することを目的としてアデノ随伴ウイルスベクターという新しい遺伝子導入方法の開発を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現時点では、一度失われた毛髪を取り戻す良い方法は存在しない。本研究によって、毛髪のもとである毛包を構成する細胞の性質を決定づけている因子が明らかとなった。生体を構成する細胞の基本的な機能の理解、新しい治療方法開発の基礎となる重要な知見であると考えられる。また皮膚を構成する複数種類の細胞に対して高い遺伝子導入効率を有するアデノ随伴ウイルスベクターの開発が進んだことは、皮膚の関連する疾患全般に対する新しい治療方法開発の重要な技術的進歩である。

研究成果の概要（英文）：To regenerate hair follicles in severely damaged skin, we developed a method to confer hair folliculogenic ability to non-hair regenerating cells. Transduction of key factors, we successfully obtained cells with hair reconstitution ability on transplantation to immunodeficient animals. Further expand the utility of the technology, development of new adeno-associated virus vector systems exclusively for skin tissues are progressed.

研究分野：形成外科

キーワード：遺伝子導入 アデノ随伴ウイルスベクター 毛髪再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

皮膚の欠損、皮膚潰瘍は周囲に存在する上皮細胞の増殖、遊走によって周縁から上皮化し治癒にいたるが、深達性の皮膚創傷部位においては、毛包、脂腺、汗腺などの皮膚付属器の有意な再生は認められない。本研究は、毛包の存在しない皮膚局所の上皮系細胞および間葉系細胞、各々に転写因子を遺伝子導入することによって毛包誘導能を付与し、毛包の再生をはかる、新しい毛包・毛髪新生治療法の開発を目的として立案した。

2. 研究の目的

発生の過程で、ひとたび細胞系譜の定まった体細胞は、同一細胞系譜内で分化を継続する。対して、Davis らは 1 遺伝子の強制的な発現により皮膚線維芽細胞が筋細胞へ変わることを示した(引用文献 1)。このような、生理的には認められない細胞系譜の転換をリプログラミングとよび、Takahashi, Yamanaka による人工多能性幹細胞(Induced pluripotent stem cells :iPS 細胞)誘導方法の発見(引用文献 2)、Vierbuchen らによる、神経細胞誘導方法の発見(引用文献 3)、Ieda らによる、心筋細胞誘導方法の発見(引用文献 4)などを契機に急速に研究が進みつつあった。

本研究は、申請者らが新規に発見したケラチノサイトへのリプログラミング(引用文献 5)技術をもとに、新規機能的スクリーニング系を用いて、間葉系細胞へ毛包を構成する間葉系細胞に特徴的な転写因子を導入することによって、毛包誘導能を有する毛乳頭細胞類似の状態へリプログラミングし、毛包の再生をはかる新しい毛包・毛髪新生治療法の開発を目的とした。

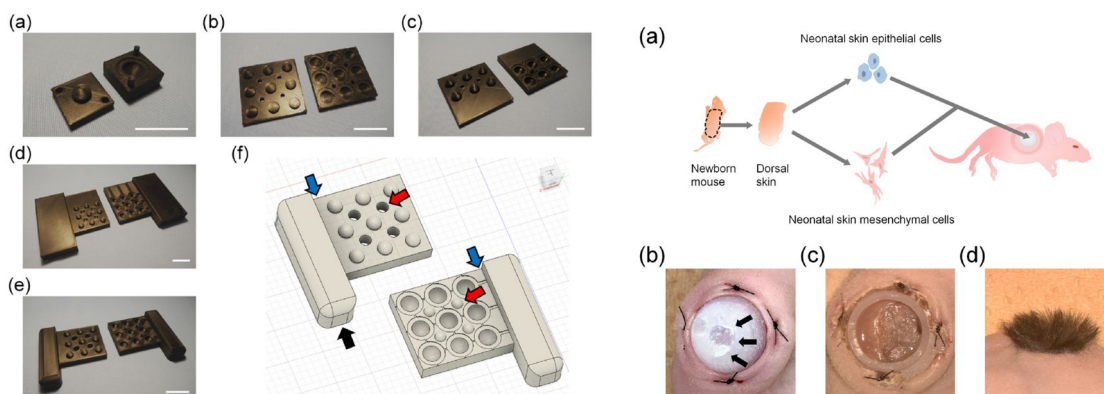
3. 研究の方法

本研究では、実際に生体内で毛包新規発生がおきている胎児期の皮膚由来細胞について、毛包誘導能の評価システムを確立し、in vitro、in vivo の新規リプログラミング因子スクリーニング系を通して、成体内で毛包の再構成を与える(毛包誘導能を付与する)リプログラミング因子を同定した。生体内に存在する無毛・乏毛状態にある皮膚組織に対して、「上皮性細胞に対して毛包形成能を付与する転写因子を遺伝子導入する」とともに、「本研究によって選択した転写因子を、皮下軟部組織間質に存在する間葉系細胞に導入し、毛包誘導能を有する毛乳頭様細胞へ表現型のリプログラミングを誘導する」方法の確立を目して、皮膚ケラチノサイト、皮膚間葉系細胞へ効率よく遺伝子導入をする方法の開発を進めた。

4. 研究の成果

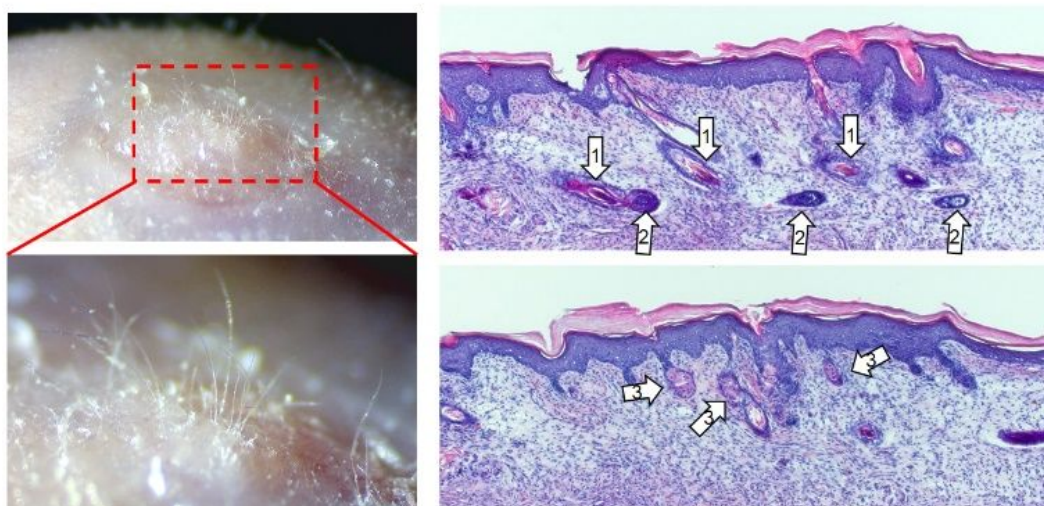
上皮系細胞・間葉系細胞への付与を目的とする毛包誘導能を評価する実験系として、3D プリンターによって作成したシリコンチャンバーを作成する系を立ち上げた。毛包誘導能の

検討やヒト皮膚再構成を要する実験モデルとして高い汎用性を有することから、一般的な3Dプリントサービスで印刷可能なデータとともにこれを文献報告した(下図、引用文献6)。



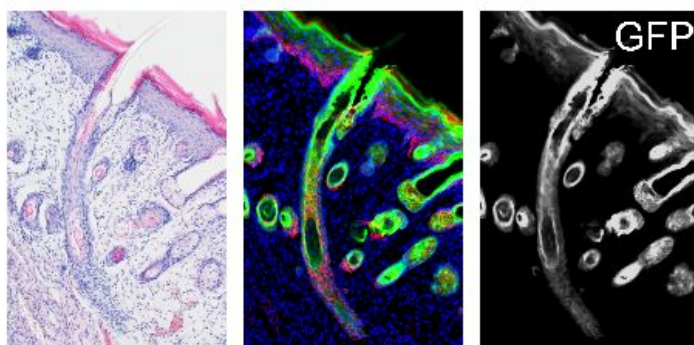
図説：左図 a-f) 3D プリント可能なシリコンチャンバー鑄型最適化のプロセス、右図 a-d) 作成されたシリコンチャンバーを用いて行った毛包誘導能評価実験系における毛包再生の経過。

データベースより、毛包誘導能を有すると想定される上皮系細胞・間葉系細胞の発現遺伝子を調べ、情報解析を行うことによって、上皮系細胞・間葉系細胞の毛包誘導能の核となりうる因子を選択した。毛包誘導能をもたないマウス間葉系細胞に対して遺伝子導入することによって、毛包誘導能をもった上皮系細胞、間葉系細胞、それぞれに誘導するための因子を同定した。当該誘導上皮系細胞、間葉系細胞を免疫不全マウスの背部チャンバーに移植することによって、生体内で発毛・毛髪再生を確認し、遺伝子導入によって、皮膚に存在する毛包誘導能をもたない細胞群に対して、毛包誘導能を付与することが可能であることを確認した(下図)。



図説：脂肪組織由来細胞に対する転写因子の遺伝子導入で誘導された細胞群を免疫不全動物背部に装着したシリコンチャンバー内に移植することによって再構成された毛髪の外観とHE所見。

さらに、誘導細胞群の一部を GFP マウス由来の細胞から誘導した細胞として系譜追跡を行うことによって、誘導細胞のみで毛包を構成しうることを確認した（下図）。



図説：上皮誘導細胞を GFP マウス由来の細胞から誘導した細胞群を用いて行った再構成実験による系統追跡の組織学的所見。再構成された毛包が誘導細胞のみで構成されていることが確認された。

一方で、本研究では皮膚を構成する間葉系細胞、上皮系細胞それぞれに対して固有の遺伝子を遺伝子導入する方法論が必要であったことから、ペプチドディスプレイを用いた定方向進化法および既存のウイルスカプシドの部分改変によって、皮膚間葉系細胞、皮膚上皮系細胞、それぞれに対して高い遺伝子導入効率を有するアデノ随伴ウイルスベクターの開発を進めた。

<引用文献>

- 1 . Davis et al. Cell 1987;51:987-1000
- 2 . Takahashi et al. Cell 2006;126:663-76
- 3 . Vierbuchen et al. Nature 2010;463:1035-41
- 4 . Ieda et al. Cell 2010;142:375-86
- 5 . Kurita et al. Nature, 2018;561:243-24
- 6 . Du et al. J Dermatol Sci. 2022;105(1):55-57.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 栗田昌和、加藤基、岡崎睦	4. 巻 274
2. 論文標題 細胞リプログラミングによる潰瘍面からの新規上皮化 高齢化社会における皮膚潰瘍治療のブレークスルーを目指して	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1071-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔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 栗田昌和、加藤基、岡崎睦
2. 発表標題 組織胎児化による皮膚再生法の開発
3. 学会等名 第19回再生医療学会総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 李可心、栗田昌和、岡崎睦
2. 発表標題 重層扁平上皮形成能を有する細胞への新規リプログラミング因子の同定
3. 学会等名 第29回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 栗田昌和、加藤基、沼畑岳央、岡崎睦
2. 発表標題 創傷治癒の促進を目的とした遺伝子治療法の開発
3. 学会等名 第50回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2020年～2021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～2020年

1. 発表者名 加藤 基, 栗田 昌和, 岡崎 睦
2. 発表標題 高いバリエーションを有するアデノ随伴ウイルスカプシドライブラリプラスミド作成法
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～2020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バーを用いた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～2020年

1. 発表者名 Motoi KATO, Mutsumi OKAZAKI, Masakazu KURITA
2. 発表標題 Development of method for regeneration of skin via tissue embryonization
3. 学会等名 CiRA 2019 International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020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
研究 分担者	栗田 昌和 (KURITA MASAKAZU) (20424111)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究 分担者	金山 幸司 (KANAYAMA KOJI) (40612601)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	

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
---------	---------