

機関番号：37116
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20591343
 研究課題名（和文） エクリン汗腺の label retaining 細胞の同定と汗腺の再生治療の開発
 研究課題名（英文） Identification of label retaining cells in the eccrine glands.
 研究代表者
 中村 元信（NAKAMURA MOTONOBU）
 産業医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：30303837

研究成果の概要（和文）：汗腺のもとなる幹細胞の局在、有無を label retaining cell の同定という手法を用い検討したところ、label retaining cell がエクリン汗腺の分泌部およびその近傍に存在し、表皮内汗管には存在しないことを明らかにした。さらに人の皮膚をマウスに移植し、label retaining cell の局在の検討をしたところ、人でも label retaining cell はエクリン汗腺の分泌部およびその近傍に存在することを証明した。これらの結果は汗腺の再生治療につながる可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：To address the localization of stem cells in the mouse eccrine glands, we tried to detect label retaining cells, which are very slow cell cycling cells. Label retaining cells reside in the secretory gland and the intraglandular duct of mouse eccrine glands. To further investigate the localization of stem cells in the human eccrine glands, we transplanted human skin onto the back skin of BALB/c nude mice. We found that label retaining cells resided in the secretory gland and the intraglandular duct. These results may lead to a new regenerative therapeutic approach for severe burn or hereditary bullous diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：幹細胞、汗腺、再生治療、上皮間葉転換

1. 研究開始当初の背景

（1）重度熱傷や先天性表皮水疱症患者では潰瘍の範囲が広く、自家皮膚移植だけでは治療が困難な場合が多い。そのため、さまざまなタイプの人工皮膚が開発され、臨床応用され、好成績をおさめている。ただし、現段階では人工皮膚には汗腺、毛包などの皮膚付属器が存在せず、汗腺や毛包を

有した人工皮膚を作成することが可能になれば整容的な面でもより進んだ治療が可能になると思われる。

汗腺の再生治療を目指すにあたって、まず汗腺の幹細胞の局在、有無を検討し、その分化機構を解明することが必要である。毛包では、幹細胞の局在が1990年トリチウムを長期間保持するla

bel retaining cellの同定という手法を用いて明らかにされた(Cotsarelis et al. Cell, 1990)。すなわち、新生仔マウスにトリチウムで標識されたチミジンを注射したところ、4週間後にトリチウムを保持している、細胞周期の遅い幹細胞が毛包のバルジ領域に局在していることが証明された。また、色素幹細胞も同じ毛包のバルジ領域に存在していることが、2002年西村らにより報告された(図1、Nishimura et al. Nature, 2002)。

(2) 爪の幹細胞を同定するため、我々は、新生仔マウスにBrdUを注射し、4週間後爪の凍結切片を抗BrdU抗体で染色した。その結果、label retaining cellはマウスの爪母の爪床に近い領域の基底層にあることが明らかとなった(Nakamura et al. J Invest Dermatol, 2008)。

(3) このように毛包、色素細胞、爪などのlabel retaining cellの局在は明らかとなったが、エクリン汗腺のlabel retaining cellの局在や分化機構は解明されていなかった。

2. 研究の目的

(1) マウスの爪のlabel retaining cellの同定時に確立した実験手法を駆使し、マウスの足底の汗腺のlabel retaining cellの局在を観察する。

(2) 人のエクリン汗腺のlabel retaining cellも同じ部位に存在するかどうか、人皮膚をヌードマウスに移植した後確認する。

(3) 汗腺の細胞が上皮間葉転換をおこなっているかどうかを上皮間葉転換のマーカであるSNAI1やTWIST1に対する抗体を用いて検討する。

3. 研究の方法

(1) 新生仔マウスにBrdUを注射し、4週間後足底の凍結切片を抗BrdU抗体で染色し、長期間核内にBrdUを保持しているlabel retaining cellの局在を検討する。

(2) 人の皮膚をヌードマウスに移植し、BrdUを注射し、4週間後背部皮膚の凍結切片を抗BrdU抗体で染色し、label retaining cellの局在の検討する。

(3) 全身性強皮症患者皮膚を上皮間葉転換のマーカであるSNAI1やTWIST1に対する抗体で免疫染色し、汗腺細胞が上皮間葉転換をおこなっている可能性について調べる。

4. 研究成果

(1) 新生仔マウスにBrdUを注射し、4週間後足底の凍結切片を抗BrdU抗体で染色したところ、抗BrdU染色で陽性のlabel retaining cellはエクリン汗腺の分泌部およびその近傍に存在し、表皮内汗管には存在しなかった。

(2) 人の皮膚をヌードマウスに移植し、BrdUを注射し、4週間後背部皮膚の凍結切片を抗BrdU抗体で染色したところ、抗BrdU染色で陽性のlabel retaining cellはエクリン汗腺の分泌部およびその近傍に存在し、表皮内汗管には存在しなかった。

(3) 全身性強皮症患者皮膚を上皮間葉転換のマーカであるSNAI1に対する抗体で免疫染色したところ、汗腺細胞がSNAI1を発現しており、上皮間葉転換をおこし、線維化に関与している可能性が示唆された。

(4) 全身性強皮症患者皮膚を上皮間葉転換のマーカであるTWIST1に対する抗体で免疫染色したところ、汗腺細胞がTWIST1を発現しており、上皮間葉転換をおこし、線維化に関与している可能性が示唆された。

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 9 件)

- ① M Nakamura, Y Tokura. Expression of SNAI1 and TWIST1 in the eccrine glands of systemic sclerosis patients. *British Journal of Dermatology*: 査読有 : 164, 2011, 204-205
- ② M Nakamura, Y Tokura. Epithelial-mesenchymal transition in the skin. *Journal of Dermatological Science*: 査読有 : 61, 2011, 7-13
- ③ M Nakamura, Y Miyachi. Congenital hypochromia without *RSP04* mutation. *Acta Dermato Venereologica*: 査読有 : 164, 2011, 204-205
- ④ M Nakamura, Y Tokura. Expression of Snail in the fibrotic dermis of postmenopausal frontal fibrosing alopecia. *British Journal of Dermatology*: 査読有 : 162, 2010, 1152-1154
- ⑤ M Nakamura, Y Tokura. The localization of label-retaining cells in eccrine glands. *Journal of Investigative Dermatology*: 査読有 : 129, 2009, 2077-2078
- ⑥ M Nakamura, Y Tokura. A novel missense mutation in the *PTCHI* gene in a premature case of nevoid basal cell carcinoma syndrome. *European Journal of Dermatology*: 査読有 : 19, 2009, 262-263
- ⑦ M Nakamura, Y Tokura. Tocilizumab-induced erythroderma. *European Journal of Dermatology*: 査読有 : 19, 2009, 273-274
- ⑧ M Nakamura, J Jo, Y Tabata, Y Tokura. Controlled delivery of T-box21 small interfering RNA ameliorates autoimmune alopecia (alopecia areata) in C3H/HeJ mouse model. *American Journal of Pathology*: 査読有 : 172, 2008, 650-658
- ⑨ M Nakamura, O Ishikawa. The localization of label-retaining cells in mouse nails. *Journal of Investigative Dermatology*: 査読有 : 128, 2008, 728-730

〔学会発表〕 (計 3 件)

- ① M Nakamura, Y Tokura. Epithelial-mesenchymal transition in skin

fibrosis and tumor formation. The 40th European Society for Dermatological Research Annual Meeting, 2010年9月10日、ヘルシンキ、フィンランド

② M Nakamura, Y Tokura. Differentiation of epidermal keratinocytes from mouse induced pluripotent stem cells. The 39th European Society for Dermatological Research Annual Meeting, 2009年9月10日、ブタペスト、ハンガリー

③ M Nakamura, Y Tokura. The localization of label retaining cells in eccrine glands and nails. *International Investigative Dermatology 2008*, 2008年5月14日、京都

〔図書〕 (計 3 件)

- ① 中村元信、中外医学社、ファーストステップ 皮膚免疫学、2010、189
- ② 中村元信、中外医学社、皮膚科基本手技 小手術ハンドブック、2009、191
- ③ 中村元信、日本医事新報社、皮膚科典型アトラス560、2008、167

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 元信 (NAKAMURA MOTONOBU)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30303837