

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06657

研究課題名(和文) 血流遮断による白髪化機構の解明と新規予防・治療法の検討

研究課題名(英文) Study of the mechanism of induced graying by blocking blood flow and development of new methods for prevention and treatment of hair graying

研究代表者

松崎 貴 (Matsuzaki, Takashi)

島根大学・学術研究院農生命科学系・教授

研究者番号：90241249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：毛周期の成長期を誘導したマウスの背部皮膚を、両側からC字型ネオジウム磁石で挟んで6時間以上圧迫すると白毛化が起こった。白毛毛包でもバルジ部に色素幹細胞が確認されたことから、幹細胞の増殖・分化が抑制されることが原因であると考えられる。毛包ごとに白毛と黒毛とが分かれるモザイクパターンとなったが、3回の毛周期にわたりパターンが維持された。白毛化マウスの皮膚に、色素細胞の分化促進因子DBcAMPやSilibininを注射したところ、一つ前の毛周期と比べ黒毛の割合が最大で約20%増加した。この白毛化マウスは、適切な処置により復活が可能な老化初期の白髪の良いモデルであり、白髪改善薬の開発などに有用である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

毛色は色素細胞が毛周期の成長期に増殖・分化することで生じる。従来、老化やストレスによる白毛化は色素幹細胞の枯渇が原因と言われており、放射線連続照射による白毛誘導マウスモデルが知られている。一方、白毛化の初期段階では黒毛に回復することがあるが、この過程を模倣するモデル動物はなかった。我々はマウスの背部皮膚を磁石で挟んで圧迫すると白毛化が起こることを発見した。この白毛化マウスでは毛包色素幹細胞は残存しているものの、増殖や分化が抑制されており、色素細胞の分化促進因子を注射すると黒毛が増加した。すなわち、黒毛復活が可能な老化初期の白髪の良いモデルであり、白髪の機序解明や改善薬の開発などに有用である。

研究成果の概要(英文)：Gray hair was induced by pressing the dorsal skin of mice in growth phase of the hair cycle by putting with C-shaped neodymium magnets from both sides after pinched up and compressed for over 6 hours. Since pigment stem cells were also confirmed in the bulge area of gray hair follicles, it is thought that the cause is suppression of stem cells proliferation and differentiation. A mosaic pattern was formed in which gray hair or black hair was emerging from each hair follicle, but the mosaic pattern in the same skin region was maintained over three hair cycles.

When the skin of gray-haired mice was injected with pigment cell differentiation-promoting factors DBcAMP and Silibinin, the proportion of black hair increased by up to about 20% compared to the previous hair cycle. This gray-haired mouse which can be revived with appropriate treatment, is an ideal model for mimicking gray hair in the early stages of human aging and is useful for the development of gray hair-improving drugs.

研究分野：皮膚科学

キーワード：白髪モデルマウス 血流遮断 Dct 色素幹細胞 老化 毛周期 毛包 薬剤開発

1. 研究開始当初の背景

年をとると頭髪が細く短くなるとともに白髪が目立ち始める。その原因として色素幹細胞の自己再生性が低下して枯渇してしまう可能性が指摘されている[1]。色素幹細胞枯渇のしくみとして、ストレスにตอบสนองして、毛包近傍に存在する交感神経からノルアドレナリンが放出され、これが色素幹細胞の分化を促進してしまうことが報告されている[2]。色素幹細胞の枯渇は、幹細胞の存在を支える局所環境である"幹細胞ニッチ"の不安定化も引き起こすため、一度枯渇してしまうともはや復活させることは困難である。一方で、白髪でも根元のほうは黒くなっていることがしばしば観察されており、日常的なストレスが増すことで白髪化が起こってしまうものの、ストレスが軽減することで再び黒毛化するケースが少なくないことが報告されている [3]。これらの事実は、メラニン合成が回復可能であることを示しており、白髪化は色素幹細胞の枯渇だけでは説明できない現象であるといえる。そこで、局所的な細胞ストレスにより白髪化しても、早い時期にうまく処置すれば復活させられるのではないかと考え、ストレスが血行阻害を引き起こして白髪化させる可能性についてマウスを用いた実験を行うとともに、このモデルを用いた白髪化の改善法の探索を試みた。

2. 研究の目的

我々は予備的な研究において、皮膚への血流を一時的に止めることで白毛化が起こること、その白毛化が毛周期の初期成長期にだけ誘導できることを見いだした。この毛周期依存的白毛化が、単なる栄養供給の一時的停止によるものではなく、虚血後の血液再還流時に発生する酸化ストレスにより惹起されるのではないかと推測し、その因果関係の解明、色素幹細胞系譜の細胞動態変化、酸化ストレス低減による白髪化抑制の効果検証を行った。具体的には、1) 白毛化が起こる毛周期ステージや血流停止時間を明らかにする、2) 皮膚の血流と白毛化との因果関係を明らかにする、3) 白毛の発生と色素細胞の分化段階との関係を明らかにする、4) 色素細胞への影響が一酸化窒素によるものかどうかを明らかにする、5) 酸素ストレスを低減することで白毛化が予防できるか、の5つの観点で検証することを当初の目的とした。後述のように、研究の過程で酸素ストレスにより白毛化する可能性よりも、血流遮断によりエピジェネティックな変化が起こり、色素幹細胞の増殖・分化プログラムが変更された可能性が高いと示唆されたことから、5) の観点での実験を変更し、5') 血流遮断による白毛誘導マウスが老化に伴うヒトの白髪化のモデルになる可能性を検証することとした。

3. 研究の方法

1) 白毛化が起こる毛周期ステージや血流停止時間を明らかにする。

マウスの皮膚を一部切開して皮下にシリコンゴム製の円盤を挿入し、皮膚の上からシリコンゴム製のOリングを嵌めて皮膚を挟むことで圧迫(リング式血管圧迫法)すると、毛周期の成長期に圧迫した時のみ白毛化し、休止期では白毛化しないことから、ワックス脱毛により人為的に成長期を誘導し、その後の毛周期の各ステージで皮膚を圧迫した後の白毛化の度合いを調べた。

2) 皮膚の血流と白毛化との因果関係を明らかにする。

白毛化が皮膚圧迫部の全域ではなく斑状にみられる原因を探るため、圧迫領域の内側の皮膚の血流を複数箇所、レーザードップラー血流計あるいは顕微血流計で計測した。血流計測はマウスをイソフルランガス麻酔した状態で実施した。

3) 白毛の発生と色素細胞の分化段階との関係を明らかにする。

白毛の発生が色素幹細胞への作用によるものか特定の分化段階にある色素細胞に対するものかを明らかにするため、白毛を含む領域の皮膚の縦断組織切片を、クリオスタットを用いて作成し、色素幹細胞のマーカーであるDctに対する免疫組織化学を行った。

4) 色素細胞への影響が活性酸素あるいは一酸化窒素によるかどうかを明らかにする。

虚血再灌流時に大量に発生する一酸化窒素の影響を検討するため、メラニン合成能を持つB16メラノーマ細胞をシスプラチン処理して増殖を抑制した状態で、一酸化窒素の供給源となるニトログリセリンを0.2~2mM投与し、メラニン合成量を測定した。また、マウス頬髭毛包の器官培養系にニトログリセリンを投与して培養し、色素細胞の分化を評価した。さらに、ニトログリセリン含む貼付剤を用いて直接皮膚に投与し、白毛化促進作用の有無を確認した。

5') 血流遮断による白毛誘導マウスが老化に伴うヒトの白髪化のモデルになる可能性の検証。

白毛化したマウスの背中皮膚をワックス脱毛して成長期を誘導し、毛が表面に出始めるまで6日間にわたって毎日、色素細胞の分化を促進すると考えられるDBcAMPやSilibininを注射して、萌出する白毛と黒毛の比率変化を画像解析で評価した。

4. 研究成果

1) 白毛化が起こる毛周期ステージや血流停止時間を明らかにする。

毛周期の成長期を誘導し、3日後(成長期初期)から10日後(成長期終期)までの各ステージでリング式血管圧迫法を行い、成長期終了後に写真撮影して白毛化率を比較した。成長期初期に白毛化しやすい傾向はみられたものの、個体差が大きく、白毛化を起こしやすい高感受性ステージの特定には至らなかった。個体差が大きかったことが、皮膚切開の影響である可能性を考え、つまみ上げた皮膚を両側からC字型ネオジウム磁石で挟むことにより、皮膚を切開することなく血管を圧迫する方法を新たに考案して実験したところ、白髪化が起こることを確認した。また、0.5 mm厚のシリコンシートで皮膚を覆ったのち、C字型ネオジウム磁石で挟んで8時間圧迫(磁石式血管圧迫法)すると白毛化がより高頻度で起こったことから、単に血流を遮断するだけでなく、皮膚表面でのガス交換を抑制するとより効果的であることが示唆された(図1)。

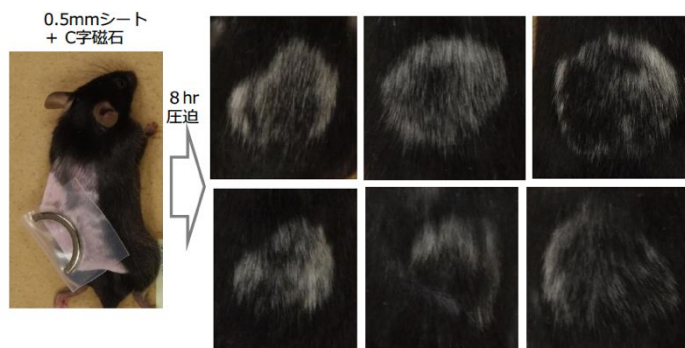


図1. 毛周期成長期初期に皮膚を一定時間圧迫すると白毛化する

2) 皮膚の血流と白毛化との因果関係を明らかにする。

白毛化が起きた場所と起こらなかった場所の血流の違いを調べ、因果関係を明らかにするため、リング式血管圧迫法で皮膚を6~8時間圧迫する過程で、圧迫領域の内側の皮膚の血流をレーザードップラー血流計あるいは顕微血流観察装置で計測した。全般的に血流が著しく低下していたものの、個体差が大きく、また同じ個体でも時間的変動が大きかったため、圧迫時の血流の部域差は検出できなかった。また、圧迫時間による血流量の違いも明確にはみられなかった。

3) 白毛の発生と色素細胞の分化段階との関係を明らかにする。

白毛を含む領域の皮膚の縦断組織切片を用いて、Dct に対する免疫組織化学を行った結果、白毛を生み出す毛包でもバルジ部に色素幹細胞と考えられる Dct 陽性細胞が確認されたが、毛球部には陽性細胞はごく少数しかみられなかった(図2)。これらの結果から、一般に考えられているように色素幹細胞が枯渇して白毛化するのではなく、幹細胞の増殖・分化が抑制されることが、血流遮断によって白毛化する原因であると考えられる。リング式血管圧迫法でも磁石式血管圧迫法でも、すべての毛が白くなるわけではなく、毛包ごとに白毛と黒毛とが分かれるモザイクパターンとなったが、毛周期が3回転する間、継続して写真撮影して比較したところ、白毛の毛包からは白毛が、黒毛の毛包からは黒毛が生え変わり、パターンが維持された(図3)。従って、色素幹細胞の増殖や分化のパターンが、遺伝子ゲノムレベルで起こるエピジェネティックな調節により固定化されていることが示唆された。

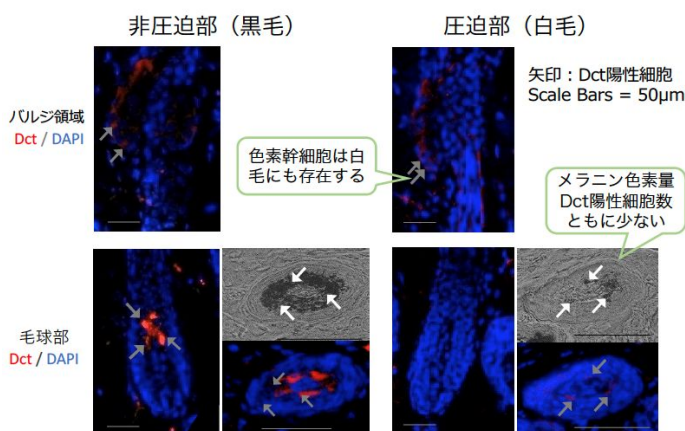


図2. 白毛の毛包にも色素幹細胞が生残している

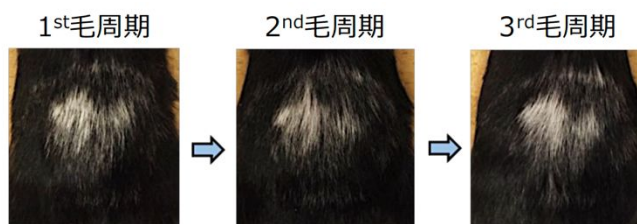


図3. 毛周期が回っても白毛からは再び白毛が生える

毛周期を経ても白毛化パターンが維持されたということは、色素幹細胞の枯渇ではなくゲノムレベルのエピジェネティックな変化と考えられる。

4) 色素細胞への影響が一酸化窒素によるものかどうかを明らかにする。

B16メラノーマ細胞にニトログリセリンを0.2~2mM投与し、メラニン合成量を測定した。投与したところ、いずれの濃度でも96時間後のメラニン合成量が低下した。また、頬髭毛包の器官培養系にニトログリセリンを投与する実験でも0.2mMで色素細胞の分化が抑制された。一方、ニトログリセリン含む貼付剤を用いて直接皮膚に投与する方法では白毛化は確認できなかった。マウス頬髭毛包の器官培養系にニトログリセリンを投与して培養し、色素細胞の分化を評価する実験でも、明確な違いはみられなかった。低酸素で誘導されるHIFの発現を誘導できる酸化鉄の投与によっても白髪化はみられなかった。以上の結果から、白髪化の誘導に局所的な一酸化窒素発生が関与する可能性は示唆されたものの、それだけでは不十分であることを示してものと考えられる。

5') 血流遮断による白毛誘導マウスが老化に伴うヒトの白髪化のモデルになる可能性の検証。

白毛化したマウスの背中皮膚に成長期を誘導し、毛が表面に出始めるまで6日間にわたって DBcAMP や Silibinin を注射したところ、一つ前の毛周期と比べ黒毛の割合が最大で約 20% 増加した。これらの結果は、皮膚の血流遮断によって誘導された白毛は、これまでに開発されてきた放射線連続照射による白毛モデルマウスなどと違い、適切な処置により復活が可能な老化初期の白髪の良いモデルとなることを示しており、白髪化のメカニズム解明や改善薬の開発などに有用であると考えられる。

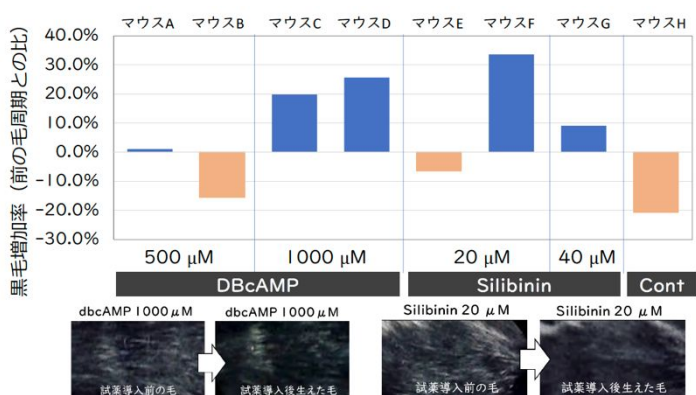


図4. 白毛化マウスに薬剤注射すると一部で黒毛が復活

参考文献

- [1] Inomata K. et al. Cell 2009, 137:1088-99.
- [2] Zhang B. et al. Nature 2020, 577:676-681.
- [3] Rosenberg AM. et al. eLife 2021, 10:e67437.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 徳重 美咲, 中村 朱里, 新部 一太郎, 松崎 貴	4. 巻 49
2. 論文標題 血流遮断による白髪が発生	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 フレグランスジャーナル	6. 最初と最後の頁 23-29
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 無
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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村朱里, 新部一太郎, 徳重美咲, 吉田菜々子, 北村美帆, 松崎 貴
2. 発表標題 黒毛マウスC57BL/6の皮膚を圧迫して血流を一時的に遮断すると白毛が生じる
3. 学会等名 日本動物学会第92回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳重美咲, 新部一太郎, 北村美帆, 松崎 貴
2. 発表標題 一時的血流遮断によるマウス背部被毛への白髪化の誘導
3. 学会等名 第28回毛髪科学研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合美弘, 山崎賀功, 松崎 貴
2. 発表標題 白髪改善薬を評価する簡便なマウスモデル系の開発
3. 学会等名 2024年度中国四国地区生物系三学会合同大会
4. 発表年 2024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
---------	---------