

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10204

研究課題名(和文)毛髪維持に必須なVII型コラーゲンの構造的特徴の解明

研究課題名(英文)Essential function of type VII collagen for hair follicle

研究代表者

神 可代 (Jin, Kayo)

弘前大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：60422060

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：マウスVII型コラーゲンのコラーゲン領域をノックアウト(KO)した場合、生下時から水疱形成が手足を中心にみられ、多くの場合生後1～2週間しか生存しない。しかし、非コラーゲン(non-collagen: NC)領域であるC末端側をKOしても、生下時には水疱はなく順調に成長することを確認した。NC2領域をKOしても生下時の水疱、びらん形成はなく、皮膚の脆弱性には問題は生じなかったが、成長とともに毛髪が疎にあり、白毛化現象が現れることを申請者らは国内外で初めて確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VII型コラーゲンと毛包構造維持の関連解明を試みた研究は国内外にない。NC2領域を持たないVII型コラーゲンが、どのように係留線維(anchoring fibril: AF)を形成し他のタンパクと接着し表皮基底膜を構成するのかを解明することは、表皮接合部の高次構造のさらなる新知見を見出す可能性がある。このことは、VII型コラーゲン遺伝子異常による表皮水疱症患者への新規治療を提供することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：We identified that knock-out of non-collagenous region 2 in the murine type VII collagen showed neither blisters nor erosion on their extremities. However, these knock-out mice showed the significant hairless condition as time proceeds.

研究分野：皮膚科学

キーワード：VII型コラーゲン 毛包

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

表皮水疱症は、軽微な外力で容易に皮膚に水疱、びらんを形成する遺伝性疾患群である。その最重症型である栄養障害型は、表皮と真皮の接着に必須な線維である VII 型コラーゲンの遺伝子異常が原因である。生下時から潰瘍の形成、瘢痕治癒を繰り返し、手指、足趾が棍棒状に癒着し、日常生活に大きな支障が生じる。また、瘢痕上に棘細胞癌が生じ、生命予後も短い。新規治療法として、遺伝子、タンパク導入法や、同種骨髄移植、線維芽細胞、間葉系幹細胞の局所投与などが限られた施設で行われている。いずれも表皮水疱症患者の表皮真皮境界部に VII 型コラーゲンが新たに発現し症状が軽快しており、新たな治療戦略として注目されている。しかしながら、他人の細胞を移植する場合拒絶反応が必須であり、また倫理的にも早急な実用化は困難である。

2. 研究の目的

表皮水疱症は、生下時より水疱、びらんが生じる遺伝性疾患である。その中でも、VII 型コラーゲン遺伝子変異で発症する栄養障害型は、最重症型である。本研究では、NC 領域と毛包構造維持との関連性を明確にし、早期脱毛の発症機序を解明する。また、NC 領域不在の中で、VII 型コラーゲンがどのように高次構造を形成し、皮膚の恒常性を維持できるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) VII 型コラーゲン NC2 領域ノックアウト (KO) マウスの作製

(2) NC2 領域特異的抗体の作製

NC2 領域が完全に KO されているか、蛍光抗体法、ウエスタン法で確認するため、NC2 領域とコラーゲン領域に対する抗体を作製する。

(3) 間葉系幹細胞の KO マウスの脱毛に与える影響

VII 型コラーゲンの補充ならびに脱毛の改善度を解明する。

C57BL/6 マウス鼠径より脂肪を採取、コラゲナーゼ処理後細胞を回収、培養。

フローサイトメトリー・ソーティングで CD31、CD45 陰性、CD90、CD105、Sca1 陽性の細胞を回収、脂肪組織由来間葉系幹細胞 (ASC) として培養する。

KO マウス脱毛部に局所投与、または尾静脈から投与。

表皮、毛包周囲の VII 型コラーゲン再生の確認。

毛包メラノサイト、毛包幹細胞の再生を確認。

4. 研究成果

(1) Cre-loxP システムで VII 型コラーゲン NC2 領域 KO マウスを作製した。

経時的に経過観察したところ、徐々に脱毛が進行。生後 40 週あたりでは全脱毛を呈した (図 1)。



図 1

(2) 組織学的に検討したところ、VII 型コラーゲン NC2 領域 KO マウスの毛包は有意な数減少を示した (図 2)。また、皮下脂肪組織も著明に減少していた。また、脂腺構造は維持されていた。

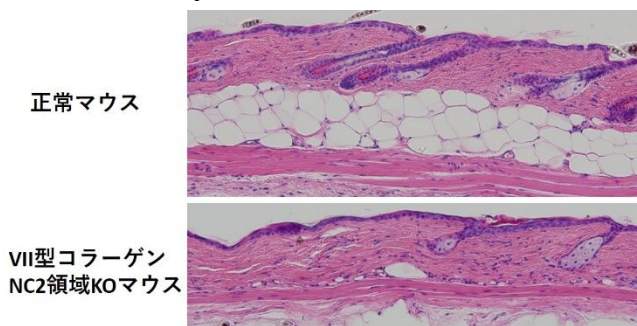


図 2

- (3) NC2 領域に特異的な領域のアミノ酸配列を同定、クローニングを行いリコンビナントタンパクを作成した。そのタンパクで chicken を免疫させ、抗 NC2 領域抗体 (IgY) を作成、VII 型コラーゲン NC2 領域 KO マウスの皮膚での発現消失を蛍光抗体法で確認した (図 3)。

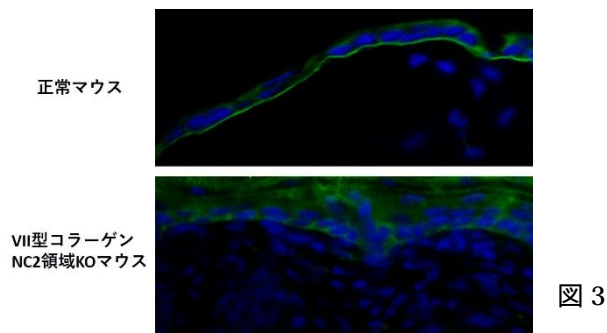


図 3

- (4) ASC の分離、培養

C57BL/6 マウス鼠径より脂肪を採取、コラーゲナーゼ処理後細胞を回収、培養、継代。フローサイトメトリーで CD31、CD45 陰性、CD105、Sca1 陽性の細胞を回収した (図 4)。

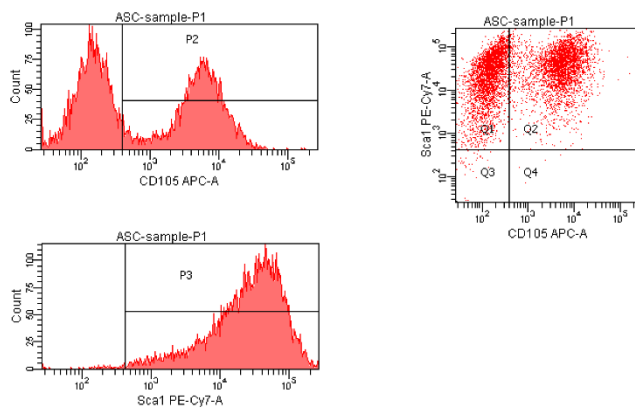


図 4

- (5) VII 型コラーゲン NC2 領域 KO マウスに上記 ASC を全身もしくは局所投与し、毛髪への影響を現在経時的に観察中である。
 間葉系幹細胞による毛髪維持、VII 型コラーゲン新規産生が確認できれば、VII 型コラーゲン遺伝子変異による重症型表皮水疱症に対する新規治療として間葉系幹細胞が有用、有効とされる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Hashimoto Takashi, Ishii Norito, Nishie Wataru, Kayaba Hiroyuki, Sawamura Daisuke	4. 巻 47
2. 論文標題 Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor associated anti laminin 1 (p200) pemphigoid in a patient with psoriasis vulgaris	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e25-e26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15126	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 Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Yamaguchi Sayaka, Takahashi Kenzo, Kayaba Hiroyuki, Sawamura Daisuke	4. 巻 46
2. 論文標題 Pediculus humanus capitis : Pyrethroid resistance and utility of scanning electron microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e418-e419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15009	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 Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Nakagawa Kouichi, Kaneko Takahide, Akasaka Eijiro, Nomura Kazuo, Sawamura Daisuke	4. 巻 2
2. 論文標題 Two cases of ichthyosis and their EPR analyses of stratum corneum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 84-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12057	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 Matsui Akinobu, Akasaka Eijiro, Rokunohe Daiki, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Nakano Hajime	4. 巻 93
2. 論文標題 The first Japanese case of familial porphyria cutanea tarda diagnosed by a UROD mutation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 65-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2018.11.004	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 Matsuzaki Y, Minakawa S, Sagara C, Takiyoshi N, Nakano H, Sawamura D.	4. 巻 28
2. 論文標題 Spontaneous remission of methotrexate-associated lymphoproliferative disorder with Epstein-Barr virus type II latency.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol	6. 最初と最後の頁 693-694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2018.3372	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 Jin Kayo, Matsuzaki Yasushi, Akasaka Eijiro, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke	4. 巻 46
2. 論文標題 Pyoderma gangrenosum triggered by switching from adalimumab to secukinumab	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e108-e109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14611	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 Matsuzaki Yasushi, Takahashi Mika, Minakawa Satoko, Jin Kayo, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke	4. 巻 57
2. 論文標題 Cutaneous collagenous vasculopathy induced by the vascular endothelial growth factor receptor inhibitor axitinib	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e167-e169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijd.14243	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 Jin K, Matsuzaki Y, Akasaka E, Fukui T, Sagara C, Nakano H, Sawamura D	4. 巻 28
2. 論文標題 Irreversible bilateral cyanosis of the hands caused by hypothenar hammer syndrome with systemic sclerosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol	6. 最初と最後の頁 525-526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2018.3311	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 Nakajima K, Jin K, Kaneko T, Matsuzaki Y, Aizu T, Nakano H, Sawamura D	4. 巻 56
2. 論文標題 Cholesterotic fibrous histiocytoma with no associated dyslipidemia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e124-e126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijd.12380	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 Jin K, Matsuzaki Y, Akasaka E, Korekawa A, Nakano H, Sawamura D	4. 巻 44
2. 論文標題 Successful treatment of low-dose methotrexate in combination with systemic steroids for juvenile multiple and symmetrical circumscribed morphea	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e256-e257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.13943	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17件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 皆川智子, 松崎康司, 中野 創, 澤村大輔, 萱場広之, 西江 渉, 石井文人, 橋本 隆
2. 発表標題 Dipeptidyl peptidase- 阻害薬関連水疱性類天疱瘡と鑑別を要した抗ラミニン 1類天疱瘡の1例
3. 学会等名 第41回水疱症研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井彰伸, 六戸大樹, 松崎康司, 中野 創, 澤村大輔
2. 発表標題 皮膚クリプトコッカス症の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第388回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川智子、松崎康司、中野 創、澤村大輔、中澤 満、萱場広之
2. 発表標題 アプレミラストで満足度が改善した乾癬性関節炎の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第388回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Matsuzaki, Eiko Makita, Tomohisa Fukui, Hajime Nakano, Daisuke Sawamura
2. 発表標題 Autoimmune reaction targeted for the C-terminal domain of BP230 induces experimental bullous pemphigoid in mice
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川智子、松崎康司、中野 創、澤村大輔、萱場広之、西江 渉、石井文人、橋本 隆
2. 発表標題 尋常性乾癬に合併した抗ラミニン 1(p200)類天疱瘡の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第387回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川智子、松崎康司、中野 創、澤村大輔、山口さやか、高橋健造
2. 発表標題 アタマジラミ症の1例
3. 学会等名 第46回皮膚かたち研究学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoko Minakawa, Yasushi Matsuzaki, Hajime Nakano, Kiminori Terui, Hiroyuki Kayaba, Daisuke Sawamura
2. 発表標題 A case of tuberculous granuloma resulting from BCG vaccination in a patient with immunodeficiency.
3. 学会等名 The 2019 Annual Meeting of the American Academy of Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原 憲司、会津隆幸、滝吉典子、金子高英、松崎康司、中野 創、澤村大輔、北村英夫
2. 発表標題 ミルメシア様外観を呈した踵部悪性黒色腫
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第385回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川智子、松崎康司、中野 創、澤村大輔、橋本 隆、石井文人、西江 渉
2. 発表標題 DPP-4阻害薬内服中に発症した水疱性類天疱瘡の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第385回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川智子、松崎康司、赤坂英二郎、金子高英、今 淳、中野 創、澤村大輔、中川公一、野村和夫、松木哲文
2. 発表標題 遺伝性角化異常症2例のスピンラベル法による角質解析.
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第383回例会、
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松崎康司
2. 発表標題 膠原病で見られる皮膚症状
3. 学会等名 第29回青森県リウマチ懇話会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 皆川智子、金子高英、松崎康司、中野 創、澤村大輔、山邊佑樹、齋藤紀先、 萱場広之
2. 発表標題 当科通院中の乾癬患者におけるPASIとDLQIに影響を与える因子の検討.
3. 学会等名 日本皮膚科学会東北六県合同地方会学術大会第382回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松崎康司、牧田瑛子、福井智久、中野 創、澤村大輔
2. 発表標題 皮膚における類天疱瘡抗原1の機能的役割の解析
3. 学会等名 "第25回分子皮膚科学フォーラム "
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Minakawa S, Nakajima K, Kaneko T, Matsuzaki Y, Takahata T, Kayaba H, Sawamura D.
2. 発表標題 Thymus and activation-regulated chemokine levels accurately reflect disease activity in a case of CD5 positive diffuse large B-cell lymphoma with peripheral eosinophilia.
3. 学会等名 AAD, Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子高英、原 憲司、滝吉典子、神 可代、皆川智子、中野 創、澤村大輔
2. 発表標題 ダーモスコピーで脳回転様外観を呈した基底細胞癌-基底細胞癌276例のダーモスコピー所見の検討と共に-
3. 学会等名 第33回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 神 可代
2. 発表標題 掻痒を伴う皮膚疾患～最近経験した症例を中心に～
3. 学会等名 弘前皮膚科専門医会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 神 可代
2. 発表標題 限局性強皮症-最近経験した症例-
3. 学会等名 東北膠原病フォーラム2017
4. 発表年 2017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	松崎 康司 (Matsuzaki Yasushi) (50322946)	弘前大学・医学部附属病院・講師 (11101)	