

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 14 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791082

研究課題名（和文）女性の男性型脱毛症におけるアンドロゲンレセプターを介した病態に関する研究

研究課題名（英文）A study about the condition of the female pattern hair loss through androgen receptor.

研究代表者

野見山 朋子（北川 朋子）（NOMIYAMA TOMOKO, KITAGAWA TOMOKO）

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：20515267

研究成果の概要（和文）：女性の正常頭部皮膚組織片を6名分入手し、培養毛乳頭細胞におけるアンドロゲンレセプターのタンパク質をウエスタンブロッティング法にて確認した。正常女性のアンドロゲンレセプターは男性と比較し極少量ながらもタンパクレベルにて全例で存在していた。しかし培養毛乳頭細胞を用いアンドロゲンレセプターの細胞内イメージング解析では、男性ホルモンの刺激によりアンドロゲンレセプターの核内への移行は反応するタイプと全く反応しないタイプにわかれ、この割合は1：2の割合であった。細胞増殖実験では、男性ホルモンによる毛乳頭細胞の増殖抑制効果は示さず、培養上澄みのTGF- β 量の変化もリガンド投与前後で差は見られなかった。よって、女性の頭部毛乳頭細胞はアンドロゲンレセプターを有しているが少量であり、男性とは感受性がことなり細胞増殖への作用が小さいことが確認された。

研究成果の概要（英文）：We collected the skin tissue sample on the female scalp. We check the protein level of Androgen receptor (AR) by Western blot analysis. In the dermal papilla cells of the normal woman, the AR protein was recognized in all cases. However, the woman was very small amount of AR protein than the man. The imaging analysis of AR in the cells that using the primary culture dermal papilla cells. There were two types AR that one was to shift in the nucleus with the ligand and the other was not. This ratio was 1:2. By the cell proliferation assay, the proliferation suppressant effect of the dermal papilla cell by ligand did not accept it. In addition, the quantity of TGF-beta of the culture top liquid did not accept a difference before and after the ligand dosage. Than the dermal papilla cell of the woman scalp had AR, but this was more small amount than the thing of the man, and it was thought that sensitivity was different.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

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：男性型脱毛症、アンドロゲンレセプター

1. 研究開始当初の背景

近年、男性型脱毛症（androgenetic alopecia, AGA）の治療薬が次々に開発され、多くの男性の AGA の治療に用いられている。AGA が男性に発症することはよく知られているが、女性の約半数に AGA が発症するともいわれており、多くの女性が潜在的に悩んでいると考えられる。しかし、現在まで女性の AGA に有効とされる治療法はミノキシジルの外用療法のみであり、またその病態生理もほとんど検討されていないのが現状である。

2. 研究の目的

男性型脱毛症（androgenetic alopecia, AGA）の発症には、アンドロゲンレセプターを介した作用が関与することが知られているが、男性の AGA と比べて女性の AGA の病態はほとんど明らかにされておらず、有効な治療法もほとんどないのが現状である。本研究では、女性の AGA 患者および健常者由来の頭部毛乳頭細胞におけるアンドロゲンレセプターを介したシグナル伝達について、以前に報告している男性と比較しながら解析を行う。

3. 研究の方法

女性の AGA 患者の病態解明のため、女性の AGA 患者および AGA でない女性のアンドロゲンに感受性のある領域、すなわち頭頂部とアンドロゲンに感受性のない後頭部の組織を採取し、組織より毛乳頭細胞を分離し初代培養をする予定であったが、AGA 患者の組織収集がとどこおった

ため、健常の女性の頭部毛乳頭細胞を用いて、以下の3点について検討する。

(1) 組織の入手、初代培養

20～70歳の頭部皮膚腫瘍切除術を受ける患者に同意を得た上で、切除組織内の正常皮膚組織片を入手し、実体顕微鏡下にて毛包下部を切離し、Collagenase で処理して毛乳頭を分離する。分離した毛乳頭を回収後、上記培養液にて初代培養を行う。継代4～6を実験に使用する。

(2) 毛乳頭細胞内のイメージング解析

初代培養した毛乳頭細胞を poly-lysine でコートしたガラスディッシュに播き、OPTI-MEM にて24時間リガンドフリーにした後に、リガンドフリーのもの、アンドロゲンのみ添付、Wnt3aのみ添付、アンドロゲンとWnt3aを添付し2時間反応させる。その後、アンドロゲンレセプターと β -カテニンの動態を二重免疫組織蛍光抗体法による細胞内のイメージング解析を行う。

(3) 培養毛乳頭細胞を用いウエスタンブロッティング法にてタンパクレベルでのアンドロゲンレセプターの存在を確認する。

(4) 毛乳頭細胞と角化細胞の共培養系における細胞増殖実験

初代培養した毛乳頭細胞と不死化さ

せたケラチノサイト (HaCaT 細胞) と共培養し、リガンドフリーのもの、アンドロゲンのみ添付、Wnt3a のみ添付、アンドロゲンと Wnt3a を添付し 2 日間反応させる。毛乳頭細胞の写真をとり、細胞数をカウントし、統計学的に解析する。培養上澄みを回収し、ELISA 法にて TGF- β 量を測定する。

3. 研究成果

(1) 毛乳頭細胞のイメージング解析にて、男性ホルモン (リガンド) の添付にてアンドロゲンレセプターが核内に移行するタイプと移行しないタイプと個人差を認めた。5 名検討し、3 名は核内移行を示し、2 名は反応を認めなかった。すべて男性と比べて男性ホルモンへの反応は明らかに乏しかった。同一毛乳頭より培養して得た毛乳頭細胞において、男性ホルモンと Wnt-3a を反応させた場合においては、アンドロゲンレセプターが β -カテニンと共核内移行する細胞と移行しない細胞の割合は約 1 : 2 であった。これは毛乳頭細胞の中に男性ホルモンに感受性のある細胞とない細胞が混在していることを意味している。

(2) 女性の培養毛乳頭細胞において、アンドロゲンレセプターがタンパクレベルで認められた。明らかに男性よりも少量であった。

(3) 4 名の症例にて検討した。細胞増殖実験においては、女性の毛乳頭細胞は男性ホルモンを添付しても、どれも細胞増殖に優位な影響は与えなかった。また培養上澄み中の TGF- β 量にも差が認められなかった。以上より、女性の頭部毛乳頭細胞はアンドロゲンレセプターを有してはいるが、男性ホルモンへ

の感受性が低く、発現量も男性と比較すると少量であるため、男性ホルモンによる細胞増殖抑制作用をしめしにくいと結論づけられた。

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 2 件)

- ① Ozawa A, Nomiyama T, Nakai N, Hartmann G, Takenaka H, Kishimoto S, Katoh N. Immunohistological analysis of in-transit metastasis in a patient with advanced melanoma treated with combination therapy of cytosine guanine dinucleotide oligodeoxynucleotide, dacarbazine and beta-interferon: A case report. J Dermatogyl. 査読有、39、2012:1035-1037.
- ② Tomoko Nomiyama, Hideya Takenaka, Saburo Kishimoto, Norito Katoh. Granuloma annulare like reaction to BCG vaccination: a case report and review of the literature. Australasian Journal of Dermatology. 査読有、54、2013:e4-e7. Doi:10.1111/j.1440-0960.2011.00814.x.

[学会発表] (計 1 件)

野見山朋子、浅井純、竹中秀也、加藤則人. 先天性欠毛症の 1 例. The 39th Annual Meeting of Society for Skin Structure Research. 2012, 7, 29. 東京慈恵医科大学.

[図書] (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

○取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 野見山朋子（北川朋子）

(NOMIYAMA TOMOKO, KITAGAWA TOMOKO)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：20515267

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者