

平成30年6月23日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2017

課題番号：16H05368

研究課題名(和文) 妊娠期における母体表皮幹細胞制御と生殖機能における役割の解明

研究課題名(英文) Epidermal stem cell dynamics during pregnancy

研究代表者

豊島 文子 (Toyoshima, Fumiko)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号：40397576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、妊娠期に腹部皮膚が広がる仕組みを解析した。妊娠マウスの腹側皮膚では、表皮幹細胞が基底膜に対して平行に非対称分裂して増殖能の高い細胞を産生されることを発見した。この増殖性細胞の出現は転写因子Tbx3に依存し、母体マウスの腹側表皮でTbx3をノックアウトすると、妊娠期での皮膚拡張が抑制され、胎児の体重が低下した。また、表皮幹細胞からTbx3陽性細胞の産生は、真皮に存在するalpha-SMA/vimentin陽性細胞が分泌するSfrp1とIGFBP2タンパク質によって制御されることを見出し、これまで未知であった表皮-真皮連携による表皮拡張機構の存在を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：During pregnancy, stem cell self-renewal and differentiation in response to a physiological alteration leads to changes in organ size and tissue homeostasis in maternal body. However, how maternal tissue stem cells adapt to physiological changes is largely unknown. We investigated the epidermal stem cell dynamics in abdominal skin of pregnant mice, which expands rapidly to deal with foetal growth. We identify a highly proliferative basal cell population in the rapidly expanding abdominal skin of pregnant mice. These cells express Tbx3 that is necessary for their propagation to drive skin expansion. The Tbx3+ basal cells are generated from Axin2+ epidermal stem cells through planar-oriented asymmetric or symmetric cell divisions. This biased division of epidermal stem cells is induced by Sfrp1 and Igfbp2 proteins secreted from dermal cells. This study elucidates the epidermal stem cell/progeny organisation for responding to the demands for rapid skin expansion during pregnancy.

研究分野：細胞生物学

キーワード：幹細胞 皮膚 妊娠

1. 研究開始当初の背景

成体内の各臓器に存在する組織幹細胞が、ライフイベントに伴う体の恒常性変化をどのように感知して増殖・分化応答するのかという問題は、幹細胞研究の重要課題の一つである。妊娠期には、造血幹細胞、神経幹細胞、乳腺幹細胞など、母体の複数の臓器において、組織幹細胞の増殖・分化が促進されることが報告されている。このような母体の幹細胞制御は、妊娠の継続や胎児の正常な発生に重要な役割を果たすと考えられるが、母体幹細胞の増殖・分化についての遺伝子・細胞レベルでの研究は数少なく、生殖機能における役割については不明であった。

2. 研究の目的

妊娠期では、胎児の成長とともに母体の腹側の皮膚が急速に伸展する。研究代表者は、胎児の成長とともに伸展する母体マウスの腹側皮膚において、表皮幹細胞の増殖が昂進し、幹細胞とは異なる性質を持つ増殖性の高い Tbx3 陽性の細胞が産生される現象を発見した。本研究では、母体幹細胞制御という観点から、妊娠に伴う母体表皮幹細胞の増殖・分化制御機構について遺伝子・細胞レベルで明らかにし、生殖機能における役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 妊娠期の母体腹側皮膚における表皮幹細胞の動態と細胞系譜解析

妊娠期における、表皮幹細胞の増殖能の変化ならびに細胞系譜解析を行う。IFE 表皮幹細胞が水平方向の非対称分裂をすることで、増殖能の高い Tbx3 陽性 TA 細胞が産生される可能性について検証する。

(2) 妊娠期の腹側表皮基底細胞における Tbx3 の機能

表皮基底細胞で Tbx3 を薬剤誘導的にノックダウン出来る cKO マウスを用いて、妊娠期における基底細胞の増殖・分裂様式ならびに、皮膚の組織構造や組織伸展への影響を解析する。Tbx3 陽性細胞の遺伝子発現プロファイルを特定し、Tbx3 のターゲット遺伝子を特定する。

(3) 妊娠期の腹側表皮基底細胞の増殖・分化制御における真皮繊維芽細胞の機能

妊娠期腹側皮膚真皮で観察される繊維芽細胞の活性化が、表皮幹細胞や、Tbx3 陽性細胞の増殖分化ならびに分裂様式を制御する

機序を解明する。

(4) 生殖機能における母体皮膚生体システムの役割

上記(1)-(3)で解明された生体システムを人為的に破綻させ、妊娠の継続ならびに胎児成長への影響を解析する。母体の表皮幹細胞制御システムが、生殖機能にどのような役割を果たすのかを検証する。

(5) 妊娠と再生における表皮幹細胞ダイナミクスの比較解析

上記(1)-(3)で解明された妊娠期における表皮幹細胞ダイナミクスが、皮膚の創傷治癒においても機能する可能性を検証する。また、創傷治癒を促進する技術の開発を目指す。

4. 研究成果

(1) 妊娠期の母体腹側皮膚における IFE 表皮幹細胞の動態と細胞系譜解析

Axin-CreERT2/H2BGFP マウスを用いて表皮幹細胞をラベルトレースした結果、妊娠期には、表皮幹細胞が基底膜に平行に非対称分裂し、娘細胞の一つが Tbx3 陽性細胞になること、この Tbx3 陽性がさらに平行分裂することで皮膚の拡張が誘導されることが分かった。

(2) 妊娠期の腹側表皮基底細胞における Tbx3 の機能

表皮特異的 Tbx3cKO マウスを作製して表現型を解析した結果、妊娠期において腹部皮膚の拡張が抑制され、皮膚に張力が生じることが分かった。このことから、Tbx3 陽性細胞は妊娠期の腹側皮膚の拡張に重要であることが分かった。Tbx3 cKO マウスから表皮基底細胞を単離し RNAseq 解析を行った結果、複数の Tbx3 ターゲット遺伝子の候補が得られた。

(3) 妊娠期の腹側表皮基底細胞の増殖・分化制御における真皮繊維芽細胞の機能

真皮のマイクロアレイ解析により、妊娠期の腹側皮膚真皮で発現が上昇する分泌因子として Sfrp1 を同定した。Sfrp1 の阻害剤投与や Sfrp1KO マウスでは、妊娠期腹側皮膚において表皮の増殖や Tbx3 陽性細胞の出現が抑制された。また、Sfrp1 は真皮の α -SMA/Vimentin 陽性細胞に発現していた。筋繊維芽細胞の分化に必要である Tgfb 受容体の阻害剤を皮内注射すると、 α -SMA 陽性細胞が減少し、表皮の増殖と Tbx3 陽性細胞

の出現が抑制されたことから、筋繊維芽細胞の関与が示唆された。

(4)生殖機能における母体皮膚生体システムの役割

妊娠マウスで表皮特異的に Tbx3 を cKO したマウスでは、胎児の変形や体重の減少が観察された。このことから、母体の皮膚の再編成が胎児の成長に重要であることが示唆された。

(5)妊娠と再生における表皮幹細胞ダイナミクスの比較解析

Tbx3 は創傷時にも表皮基底層に発現し、Tbx3cKO では創傷治癒が遅延したことから、Tbx3 陽性細胞は創傷治癒も促進することが分かった。さらに、傷口に Sfrp1 と Igfbp2 を皮内注射すると、治癒が早まることが観察された。この現象は Tbx3cKO マウスでは認められなかったことから、Sfrp1 と Igfbp2 は表皮の Tbx3 陽性細胞を介して創傷治癒を促進する効果があることが分かった。これらのことから、妊娠期における表皮幹細胞ダイナミクスを皮膚の再生医療に応用できる可能性を示された。

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 2 件)

Ichijo, R., Kobayashi, H., Yoneda, S., Iizuka, Y., Kubo, H., Matsumura, S., Kitano, S., Miyachi, H., Honda, T., and Toyoshima, F.

Tbx3-dependent amplifying stem cell progeny drives interfollicular epidermal expansion during pregnancy and regeneration. *Nat. Commun.* 8, 508 (2017)

doi: 10.1038/s41467-017-00433-7

Ichijo, R., Iizuka, Y., Kubo, H., and Toyoshima, F. Essential roles of Tbx3 in embryonic skin development during epidermal stratification. *Gene Cells* 22, 284-292 (2017)

doi: 10.1111/gtc.12476.

[学会発表](計 14 件)

Fumiko Toyoshima, Stem cell dynamics in skin homeostasis. *Frontline in Developmental Biology*, 2018

豊島文子「生理的な体型変化に適応するための表皮幹細胞ダイナミクス」

高遠シンポジウム、2017年

豊島文子 : Orchestration of stem and progenitor cells drives abdominal skin expansion during pregnancy 第15回幹細胞シンポジウム、2017年

久保嘉一、一條遼、山本拓也、豊島文子 妊娠期の皮膚拡張における転写因子 Tbx3 の機能解析 生命科学系学会合同年次大会、2017年

一條遼、小林大毅、米田早織、飯塚ゆい、久保嘉一、松村繁、北野さつき、宮地均、本田哲也、豊島文子 妊娠期の腹側皮膚伸展を可能とする表皮幹細胞ダイナミクスの解明 生命科学系学会合同年次大会、2017年

豊島文子 : 生理的体型変化を担う表皮幹細胞の対称・非対称分裂、基生研研究会、2016年

豊島文子「細胞分裂軸の制御機構と皮膚組織構築における役割」富士フィルム講演会 2016年

豊島文子「皮膚伸展を担う表皮幹細胞・前駆細胞の動態システム」HiHA ワークショップ 2016年

豊島文子「妊娠期における表皮幹細胞の増殖制御機構」第68回日本細胞生物学会シンポジウム 2016年

Fumiko Toyoshima, Stem and transit-amplifying cells orchestrate abdominal skin expansion during pregnancy, SPIRITS Swiss-Kyoto Joint symposium on Life Science 2016,

Ichijo, R. Stem and transit-amplifying cells orchestrate abdominal skin expansion during pregnancy. The 27th CDB Meeting Body Surface Tactics cellular crosstalk for the generation of super-biointerfaces, 2016.

Ichijo, R. Tbx3-dependent proliferation of transit-amplifying cells drives interfollicular epidermal expansion during

pregnancy and regeneration. 41st JSID,
2016.

一條遼、小林大毅、米田早織、松村繁、本
田哲也、豊島文子 皮膚幹細胞とTA細胞が妊
娠期の皮膚伸展を可能とする 第65回日本
細胞生物学会大会、2016年

一條遼、小林大毅、米田早織、松村繁、本
田哲也、豊島文子 皮膚幹細胞とTA細胞が
妊娠期の皮膚伸展を可能とする 第39回日
本分子生物学会年会、2016年

〔図書〕(計 0 件)

〔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〕

朝日新聞デジタル(2017年9月11日)、産経
新聞大阪 2017年9月12日26面、日経バ
イオテクオンライン(2017年9月14日)、マ
イナビニュース(2017年9月15日)掲載。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊島 文子 (TOYOSHIMA, Fumiko)
京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・
教授
研究者番号：40397576

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

小田裕香子 (ODA, Yukako)
京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・
助教
研究者番号：70452498

(4) 研究協力者

一條遼 (ICHIJO, Ryo)