

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08311

研究課題名(和文) 自家毛髪細胞による毛髪再生医療の実現に向けた誘導能維持機構の解明とその臨床応用

研究課題名(英文) Identification of the mechanism underlying the maintenance of hair inductivity, toward the realization of hair regenerative medicine using autologous hair stem cells and its clinical application

研究代表者

新山 史朗(NIIYAMA, Shiro)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：80286286

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)：我々が取り組んでいる毛球部毛根鞘細胞(dermal sheath cup cells: DSCC)を用いた毛髪の再生医療は、壮年性脱毛症患者へ新たな治療法を提供する可能性を有した画期的な細胞治療法である。我々は、DSCCに特異的に発現している遺伝子としてgremlin (GREM)を同定して解析を進めた。In situ hybridizationによるmRNAの発現観察では、GREM2の発現はバルジ領域を含む毛包中間部では全く認められず、DSCCに限局していた。異なる毛周期でのGREM2の発現は、成長期や退行期でも、また、通常の大さの半分程度にミニチュア化した毛包でも、DSCCに発現がみられた

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は再生能力の維持に必須の因子、生理条件を確定することにより、毛髪再生医療の有効性を向上させることを目的とする。更に、毛髪の再生機構は腎臓、心臓、肺等の重要な内臓器官と類似点が多く、本研究で明らかにされた因子および生理条件は再生医療全般の治療技術の向上への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：We are engaged in research using dermal sheath cup cells (DSCC) in the field of hair regenerative medicine. It is a breakthrough cell therapy with the potential to provide new treatment options for patients with androgenetic alopecia. We have identified Gremlin (GREM) as a gene that is specifically expressed in the DSC. Investigation of the mRNA expression levels of GREM by in situ hybridization revealed localization of GREM2 in the DSC, with no expression in the middle-portion (extending to the bulge) of the hair follicle. Expression of GREM2 in the DSC was observed at different stages of the hair cycle, even during the anagen and catagen phases, and even in miniaturized follicles that were almost one-half of their original size.

研究分野：皮膚科

キーワード：再生医療

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

我々が取り組んでいる自家毛髪細胞（毛球部毛根鞘細胞 dermal sheath cup cells: DSCC）を用いた毛髪の再生医療は、壮年性脱毛症患者へ新たな治療法を提供する可能性を有した画期的な細胞治療法であり、既に日本国内で初の細胞治療の臨床試験を開始している。頭皮組織中で再生能力を有した状態の DSCC (intact DSCC) を、再生能力を維持したまま細胞培養により増殖させ、治療に十分な細胞数を確保することは臨床応用の上で最重要の技術課題である。本課題を克服すべく intact DSCC の遺伝子プロファイリングを実施し、既にいくつかの intact DSCC 特異的因子を明らかにしている。

2. 研究の目的

本研究課題は再生能力の維持に必須の因子、生理条件を確定することにより、治療の有効性を向上させることを目的とする。更に、毛髪の再生機構は腎臓、心臓、肺等の重要な内臓器官と類似点が多く、本研究で明らかにされた因子および生理条件は、再生医療全般の治療技術の向上への貢献が期待される。

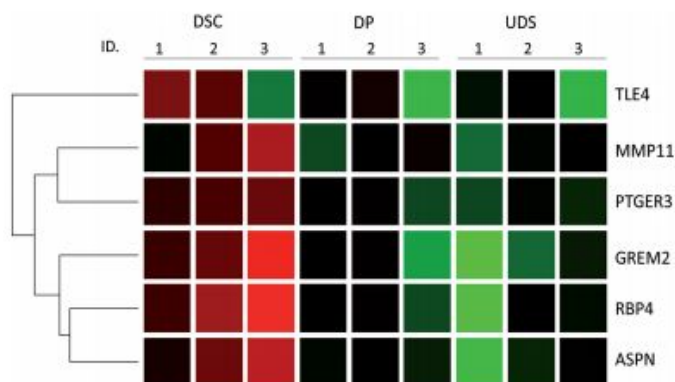
3. 研究の方法

(1) DSCC 特異的発現を有する候補遺伝子群から、実際に毛包誘導能に関与する遺伝子(因子)を絞り込む。我々が intact DSCC のプロファイリングで見い出している DSCC を特徴付ける因子群を、siRNA を用いたサイレンシングによって、毛包誘導能との相関性を有するアルカリフォスファターゼ活性を指標にスクリーニングし、誘導能に寄与する候補因子群を 10 因子程度に絞り込んで選定する。

(2) パスウェイ解析を用いたこれまでの我々の研究では、いくつかの DSCC 特定遺伝子の発現制御因子(DSCC マスター遺伝子)が存在する可能性を明らかにしている。候補である TGF-B1、BMP4、WNT3A について遺伝子サイレンシングを実施し、個別の因子毎の発現低下と比較して、より顕著で継続的な誘導能に対する変化が見い出せるかを検証する。

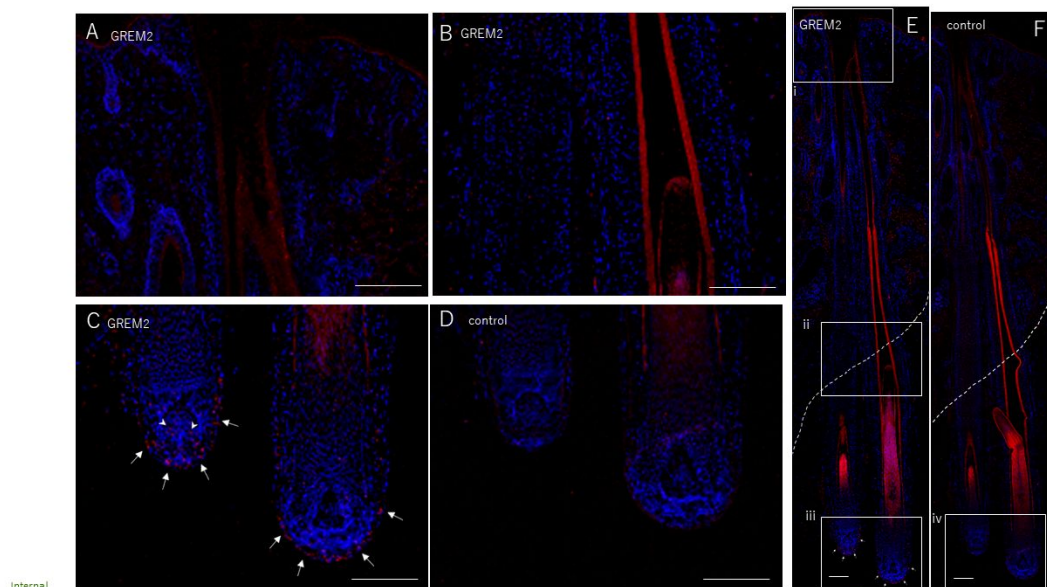
4. 研究成果

3 例の手術検体の残余皮膚を用い、マイクロアレイ解析により 6 万個の遺伝子の網羅的発現解析を行った。毛包部位間で比較した所、毛乳頭 (dermal papilla: DP) より毛球部毛根鞘 (dermal sheath cup: DSC) で多く発現し、なおかつ上部真皮毛根鞘 (upper dermal sheath: UDS) より DSC で多く発現している遺伝子として TLE4、MMP11、PTGER3、glmlin 2 (GREM2)、RBP4、ASPEN の 6 つを見出した。右図は DSC 優位の 6 つの遺伝子における毛包部位間の発現を、ヒートマップで示した。赤が亢進、緑が抑制していることを示しており、いずれも DSC で亢進していた。

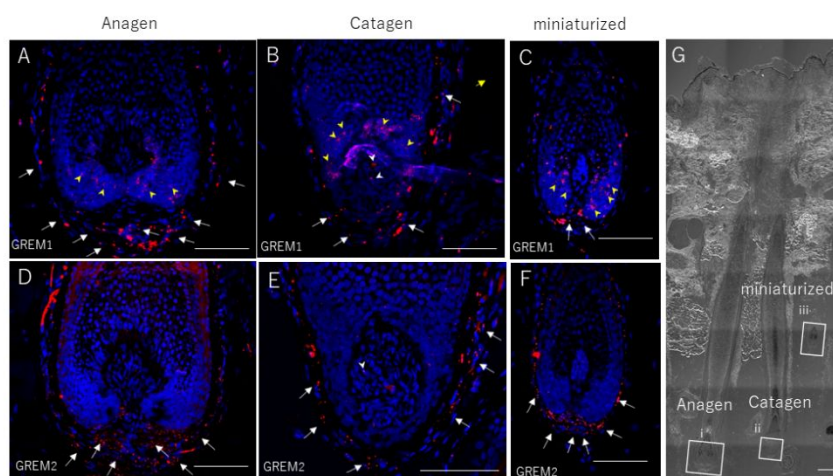


特に、GREM2 がコードする GREM は毛の発生や、毛周期に重要である bone morphogenetic protein (BMP) のアンタゴニストであり、毛髪再生における機能を明らかにするため、まず GREM2 の毛包組織中における毛周期の各サイクルでの発現パターンを精査した。

検出法に View RNA を用いて *In situ* hybridization による mRNA の発現を観察した。毛包全体の GREM2 の発現は、毛穴の部分である毛包漏斗部(A)や、バルジ領域を含む毛包中間部(B)では全く認められず、(C)に示すよう、GREM2 の発現は DSC に限局していた。毛幹部にも強いシグナルがみられるが、これは陰性コントロールでもみられることから(F)、非特異的シグナルと考えた(下図)。

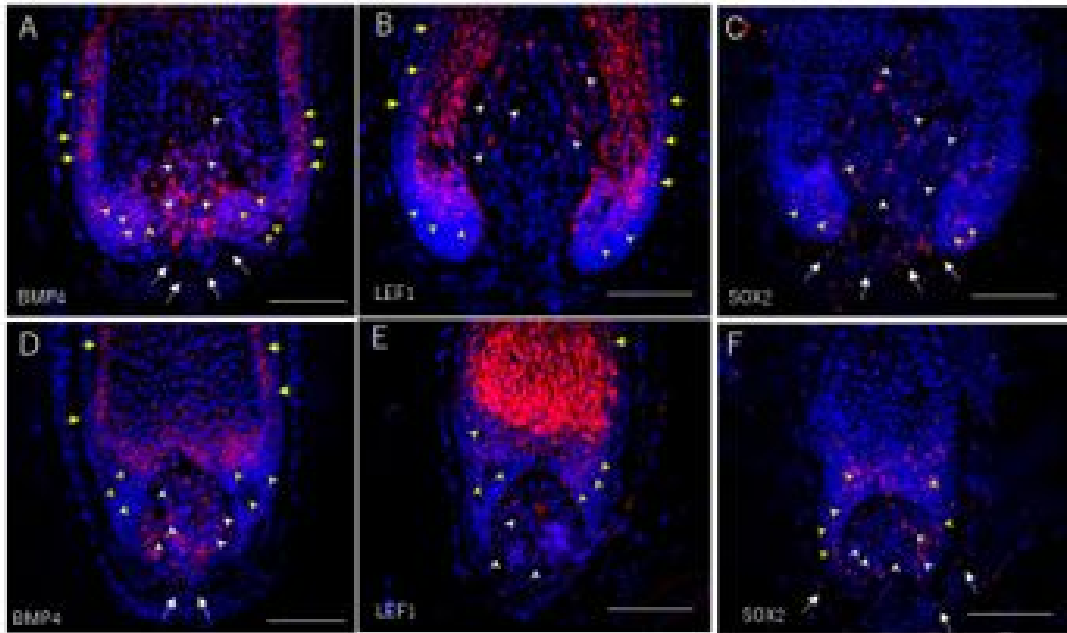


異なる毛周期での GREM2 の発現を観察した。成長期は勿論(D)、退行期でも(E)、また、通常の大さの、半分程度にミニチュア化した毛包でも(F)、DSC に発現がみられた。同じく BMP のアンタゴニストであり、GREM のサブタイプである GREM1 は、GREM2 と同様に DSC で発現していた(A-C)。同時に、上皮マトリクスにもシグナルが認められた(A-C)。毛球部における両者の住み分けが観察され、GREM1 と GREM2 は、BMP に対して異なる部位で制御していると考えた(下図)。

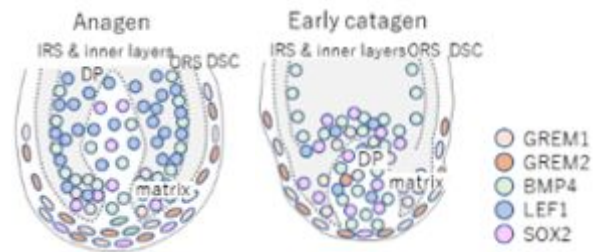


Internal

GREM によって制御される BMP4 は、成長期でも退行期でも DP とマトリクスに発現していた(A, D)。また、成長期の開始や進行、毛包細胞の分化に重要であり、BMP シグナリングと密接に関連しているのが WNT シグナリングである。それに関わる転写因子である LEF1 も DP とマトリクスに(B, E)、同じく BMP シグナリングとの関連がいわれている SOX2 は、DP、マトリクス、および DSC に発現していた(C, F)。このように、毛球部では複数の因子により、協調的な制御がなされていると考えられた(下図)。



以上の結果をまとめると、GREM2のDSCでの特異的な発現を確認し、GREM1がDSCと上皮マトリクスで発現することを見出し、これまでよく知られた複数の毛包制御因子の、毛球部における住み分けを明らかにした。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Shiro Niiyama, Yumiko Ishimatsu-Tsuji, Yosuke Nakazawa, Yuzo Yoshida, Tsutomu Soma, Ritsuro Ideta, Hideki Mukai, Jiro Kishimoto	4. 巻 98
2. 論文標題 Gene expression profiling of the intact dermal sheath cup of human hair follicles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Dermato-Venereologica	6. 最初と最後の頁 694~698
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2340/00015555-2949	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 -

〔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 新山史朗、辻 弓子、岸本治郎
2. 発表標題 ヒト毛球部毛根鞘細胞の特性解析：Gremlin 2を中心に
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新山史朗、辻 弓子、中沢陽介、吉田雄三、相馬 勤、出田立郎、向井秀樹、岸本治郎
2. 発表標題 ヒト毛球部毛根鞘組織における遺伝子発現プロファイルの解析
3. 学会等名 第23回日本臨床毛髪学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新山史朗、辻 弓子、岸本治郎
2. 発表標題 Niche formed by bone morphogenetic protein antagonists gremlin 1 and gremlin 2 in human hair follicles
3. 学会等名 第28回毛髪科学研究会
4. 発表年 2020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
研究協力者	岸本 治郎 (KISIMOTO Jiro)		

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
---------	---------