

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16607

研究課題名(和文)皮膚における老化細胞の運命と動態の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanisms of epidermal aging

研究代表者

浅川 杏祐 (Asakawa, Kyosuke)

東京大学・医科学研究所・特任助教

研究者番号：60747187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：表皮の生理的な老化メカニズムの理解のために、マウス表皮をモデルとして加齢に伴う皮膚機能の変化や幹細胞の挙動を解析した。

放射線やUVBなどDNAダメージを引き起こす環境因子は加齢皮膚同様の機能低下を導くが、若齢マウスにおける恒常性維持過程ではDNAダメージを受けた表皮幹細胞は増殖を停止して分化方向へ運命付けられ、ヘミデスモソーム構成因子の発現低下を導き表皮基底層から離脱する組織再生機構が存在すること明らかとした。ヒト表皮細胞を用いた三次元培養でも同様の結果であったことから、DNAダメージ幹細胞の基底層からの離脱による組織再生は種を超えた普遍的な恒常性維持機構であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、加齢性の皮膚機能低下において表皮幹細胞の加齢変化、すなわち幹細胞老化が組織における老化形質出現の中心的な役割を果たすこと、また、幹細胞においてDNA障害を引き起こす種々の環境因子が組織老化促進因子としての重大なリスクファクターとなりうることを示した。本成果に基づく幹細胞老化の抑制を作用点とした、超高齢化社会における抗老化技術の開発へと繋がるものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：In order to understand the physiological aging mechanism of the epidermis, we analyzed changes in skin function and stem cell behavior during aging using the mouse epidermis as a model.

Environmental factors that cause DNA damage, such as radiation and UVB, lead to functional decline similar to that of aged skin. Fate analysis revealed that DNA damage of epidermal stem cell leads to differentiated and then withdraw from the basal layer of the epidermis during homeostasis in young mice. Similar results were demonstrated in three-dimensional culture using human epidermal cells. These results indicating that tissue regeneration by withdrawal of DNA damaged stem cells from the basal layer is a conserved maintenance mechanism of epidermal stem cell pool throughout the species.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：皮膚 幹細胞 老化

## 1. 研究開始当初の背景

発生・再生学研究の進展により、器官発生や恒常性維持プロセスにおける細胞間の相互作用による幹細胞システムの重要性が理解されてきた (Fuchs *et al.*, *Nature*, 2007)。さらに近年、組織老化においても加齢に伴う幹細胞の機能低下、すなわち幹細胞老化が組織の機能低下に重要な役割を果たすことが示されてきた (Nishimura *et al.*, *Nature*, 2002; Nishimura *et al.*, *Science*, 2005; Matsumura *et al.*, *Science*, 2016; Liu *et al.*, *Nature*, 2019)。また最近、生理的老化において、「細胞老化」現象を起こした組織を構成する細胞が組織老化に寄与し、この「老化細胞」を除去すること (senolysis) により寿命の延伸が可能であることも報告され、加齢における老化細胞の機能に注目が集まっていた (Baker *et al.*, *Nature*, 2016)。しかし、恒常性維持の中心的役割を果たす幹細胞システムとの関連が不明であり、老化メカニズムの理解に向けて生体内組織を構成する細胞の動態解明、とくに幹細胞動態の解明が必要であった。

## 2. 研究の目的

超高齢化社会において、機能低下を導き個体老化を促進する組織の老化メカニズムを理解することは、作用点を明確にした有効な抗老化戦略を導くために重要な課題である。本研究課題では、恒常性維持に重要な役割を果たす幹細胞システムによって維持される組織のモデルとしてマウス表皮組織に着目し、幹細胞の挙動や運命を解析することにより、幹細胞がいかにして組織の恒常性を維持しているかを理解することを目指した。特に、体表面に位置して種々の環境因子に暴露されるといふ表皮の特性上、環境因子との関係性にも着目して解析を行い、これらの検証をもとに、組織老化における幹細胞の役割を明確にし、将来的な抗老化戦略に繋げることを目標とした。

## 3. 研究の方法

報告者らは、若齢期の毛包幹細胞や表皮幹細胞において高発現するヘミデスモソーム構成因子の一つである 17 型コラーゲンが自己複製に必須であり、その欠損マウスは毛包や表皮組織において早期に老化形質の出現を導くこと、さらに、このタンパク質の発現が低い表皮幹細胞は表皮基底細胞層から優先的に離脱することを見出していた (Liu *et al.*, *Nature*, 2019, 当時未発表、図.1)。そこでまず、老化促進因子として想定される種々の環境因子刺激による表皮基底細胞の性状や機能変化の解析を行なった。さらに、環境因子によって引き起こされる表皮幹細胞での DNA ダメージを模倣したモデルとして、薬剤依存的に表皮幹細胞で DNA ダメージを誘導可能な K14creER; I-Ppo-I (GFP・HA レポーター) マウスを作成し、その運命と動態を解析するとともに、ヒト表皮細胞を用いた生体外培養試験系においても検証した。

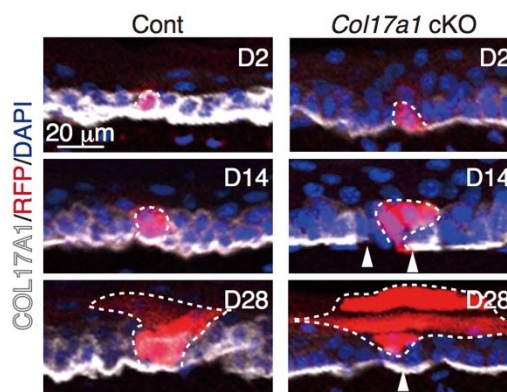


図.1 Control (左) と Col17a1 欠損細胞 (右) のラベル後 2, 14, 28 日の系譜解析  
Col17a1 欠損細胞は基底層から排除される

## 4. 研究成果

まず、環境因子による皮膚の老化を解析した。紫外線照射では、先行研究の結果通り表皮幹細胞の増殖が一時的に亢進して表皮の厚みが増し、基底層において DNA 損傷応答に伴うフォーカス形成が多く誘導された。その後、DNA ダメージ細胞は分化細胞層へと

分布が変化したことから、DNA ストレスを受けた表皮幹細胞は基底層から分化細胞層へ移動し、最終的に組織から消失している可能性が示唆された。

そこで、一部の表皮基底層にのみ薬剤依存的に DNA ダメージを誘導可能なマウス (K14creER; I-Ppo-I) を作製し、その細胞の運命を解析したところ、DNA ダメージを誘導された表皮幹細胞は分裂せずに基底層を離れて分化細胞層へと移動し、1 ヶ月以内に表皮組織から消失する様子が明らかとなった。DNA ダメージを誘導した細胞について解析を行った結果、DNA ダメージ誘導により細胞増殖の停止し、p53 の発現およびリン酸化が亢進してその下流である表皮分化を促進する Notch シグナルが亢進することが明らかとなった。また、ヘミデスモソーム構成因子の一つである 1 インテグリンの発現も低下しており、DNA ダメージ細胞は増殖停止、分化、基底膜との接着低下という複合的なメカニズムにより基底層から離脱していることが示された。

さらに、ライブイメージングにより、I-Ppo-I を発現したヒト表皮細胞が正常細胞に比べ有意に基底層から離脱する様子を観察した。

以上の結果から、DNA ダメージを引き起こす環境因子は幹細胞を分化に導き、幹細胞プールからの自律的な離脱メカニズムを明らかとし、本機構がヒト表皮においても保存された普遍的なものであることも示した (図.2)。

本研究は、環境因子による幹細胞老化に対し、組織レベルでの抗老化機構としての幹細胞プールの質的維持機構の一端を明らかとしており、今後、幹細胞システムにより維持される他組織の老化メカニズムの解明や抗老化戦略に繋がることを期待される。

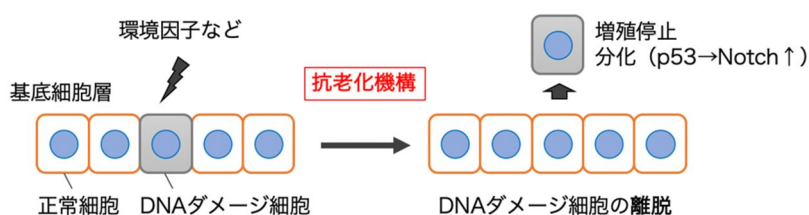


図.2 DNA ダメージ細胞の基底層からの離脱による幹細胞プールの質的維持機構

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kato Tomoki, Liu Nan, Morinaga Hironobu, Asakawa Kyosuke, Muraguchi Taichi, Muroyama Yuko, Shimokawa Mariko, Matsumura Hiroyuki, Nishimori Yuriko, Tan Li Jing, Hayano Motohshi, Sinclair David A., Mohri Yasuaki, Nishimura Emi K.	4. 巻 56
2. 論文標題 Dynamic stem cell selection safeguards the genomic integrity of the epidermis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 3309 ~ 3320.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2021.11.018	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 該当する
1. 著者名 Liu Nan, Matsumura Hiroyuki, Kato Tomoki, Ichinose Shizuko, Takada Aki, Namiki Takeshi, Asakawa Kyosuke, Morinaga Hironobu, Mohri Yasuaki, De Arcangelis Ad?le, Geroges-Labouesse Elisabeth, Nanba Daisuke, Nishimura Emi K.	4. 巻 568
2. 論文標題 Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 344 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-019-1085-7	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 該当する
1. 著者名 Nanba Daisuke, Toki Fujio, Asakawa Kyosuke, Matsumura Hiroyuki, Shiraiishi Ken, Sayama Koji, Matsuzaki Kyoichi, Toki Hiroshi, Nishimura Emi K.	4. 巻 220
2. 論文標題 EGFR-mediated epidermal stem cell motility drives skin regeneration through COL17A1 proteolysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.202012073	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 該当する
1. 著者名 Takeo Makoto, Asakawa Kyosuke, Toyoshima Koh-ei, Ogawa Miho, Tong JingJing, Iri? Tarou, Yanagisawa Masayuki, Sato Akio, Tsuji Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Expansion and characterization of epithelial stem cells with potential for cyclical hair regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80624-3	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 Morinaga Hironobu, Mohri Yasuaki, Grachtchouk Marina, Asakawa Kyosuke, Matsumura Hiroyuki, Oshima Motohiko, Takayama Naoya, Kato Tomoki, Nishimori Yuriko, Sorimachi Yuriko, Takubo Keiyo, Suganami Takayoshi, Iwama Atsushi, Iwakura Yoichiro, Dlugosz Andrzej A., Nishimura Emi K.	4. 巻 595
2. 論文標題 Obesity accelerates hair thinning by stem cell-centric converging mechanisms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 266 ~ 271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-021-03624-x	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------