

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08665

研究課題名(和文) 表皮細胞由来VII型コラーゲンの毛包構造維持に果たす役割の解明

研究課題名(英文) Functional analyses of type VII collagen driven from keratinocytes for hair follicles

研究代表者

松崎 康司 (Matsuzaki, Yasushi)

弘前大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50322946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：表皮細胞でのみNC2領域をKOしたNC2-cKOマウスは、生後20週あたりから脱毛、白毛化が出現し、生後30週あたりでは全脱毛状態になることを確認した。NC2-cKOマウス背部皮膚では、正常な毛包は見られなかった。また、脂腺はコントロールと比較し数が減少していた。真皮はやや肥厚しているが、皮下脂肪組織はほぼ消失していた。まず、C57BL/6マウスより脂肪組織を採取、間葉系幹細胞を培養、増殖に成功した。NC2-cKOマウス脱毛部背部皮膚を免疫不全マウスに移植、皮膚生着後、間葉系幹細胞を植皮片周囲に週1回皮下注射した。経時的に臨床症状を確認したが、明らかな脱毛抑制効果は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

COLVIIが互いに結合し最終的に三重らせん構造を呈するためには、NC2領域での結合が重要である。COLVIIが関わる脱毛を解析することは毛髪老化現象による壮年性脱毛、頭髪の白毛化の発生機序解明につながると思う。本研究は、COLVII欠損の表皮水疱症患者へ新規COLVIIを提供する基盤となる研究課題であり、また脱毛・白毛化の改善という一般社会にも研究成果が波及することが期待できる創造性をもった研究である。

研究成果の概要(英文)：We confirmed that NC2-cKO mice, which the expression of NC2 domain is abolished in keratinocytes, showed gradually gray hair and hair loss around 20 weeks old. On the dorsum skin of NC2-cKO mice, normal hair follicles disappeared. Furthermore, the number of sebaceous glands decreased. We successfully established mesenchymal stem cells driven from fat tissues of normal mice. We injected these cells around skin graft from NC2-cKO mice on the Rag2 mice every week. Unfortunately, mesenchymal stem cells did not show the induction of hair growth.

研究分野：dermatology

キーワード：type VII collagen keratinocyte

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、遺伝子異常のため軽微な外力で容易に皮膚に水疱、びらんを形成する先天性皮膚疾患である。その最重症型である栄養障害型は、表皮側と真皮側の接着に必須な線維であるVII型コラーゲン(COLVII)の遺伝子異常が原因である。生下時から四肢を中心に水疱、びらんが出現、潰瘍・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。COLVIIは主に、表皮側の表皮細胞と真皮側の線維芽細胞から産生される。COLVIIは、両末端の非コラーゲン(noncollagen:NC)領域と中央部のコラーゲン領域から構成されるタンパクで、NC2領域でお互いに結合し、最終的に三重らせん構造を呈する。その後NC2領域の末端側は切断され、係留線維として表皮基底膜を真皮側から裏打ちするように表皮・真皮を接着させる働きをする。申請者らは、すでにCOLVIIのコラーゲン領域およびNC2領域をノックアウト(KO)したマウスを所有している。どちらのKOマウスも、生下時から四肢、口囲に水疱、血疱が生じ、多くは生後1週ほどしか生存しない。一部COLVII-KOマウスは、30週ほど生存するが、手足は表皮水疱症患者と同様に棍棒状瘢痕を呈する。マウスにおいても、正常なCOLVIIが欠損するとヒトと同様に栄養障害型表皮水疱症を発症することを証明した。しかしながら、多くのCOLVII-KOマウスは短命であり、表皮水疱症に対する新規治療法を開発する疾患モデルとしては不向きであった。そこで、長期生存可能な表皮水疱症モデルマウス作成を目的に、表皮細胞でのみNC2領域をKOするコンディショナルKO(cKO)マウスを、Cre-loxPシステムで作成した。他のKOマウスと違いNC2-cKOマウスは、生下時に水疱形成は見られず、順調に成長した。しかしその一方、生後20週あたりから脱毛、白毛化が出現し、生後30週あたりでは全脱毛状態になることを確認した。つまり、真皮側からのCOLVIIは存在しているが、表皮細胞由来COLVIIが途絶えてしまうと、表皮水疱症様の表皮下水疱は形成しないが、毛包構造に何らかの欠陥を生じ、早期の脱毛・白毛化現象が生じたと考える。

本研究では、NC2-cKOマウスの組織学的検討ならびに、脱毛・白毛化を緩和させる目的に、真皮側からCOLVIIを補充する方法を開発する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、表皮細胞から産生されるCOLVIIの係留線維形成を介した毛包構造維持システムの解析である。COLVIIが互いに結合し最終的に三重らせん構造を呈するためには、NC2領域での結合が重要である。そのNC2領域のどの部位がCOLVII同士との結合する上で必須であるかを解明することは、将来表皮水疱症患者の治療目的に人工的なCOLVIIを作成する上でも重要な情報となる本研究の独自性であり、基礎的なCOLVIIの構造決定プロセスを詳細に解明することになる。また、COLVIIに関わる脱毛を解析することは毛髪老化現象による壮年性脱毛、頭髪の白毛化の発生機序解明につながるかと考える。本研究は、COLVII欠損の表皮水疱症患者へ新規COLVIIを提供する基盤となる研究課題であり、また脱毛・白毛化の改善という一般社会にも研究成果が波及することが期待できる創造性をもった研究である。

3. 研究の方法

(1) NC2-cKOマウス脱毛部の毛包構造の分析

表皮細胞由来COLVIIをKOしたNC2-cKOマウスにおける、脱毛状態を分析する。

NC2-cKOマウスを経時的に観察、4週ごとに背部皮膚から皮膚生検を行い、経時的な毛包構造の変化を、HE染色で確認する。

電子顕微鏡でヘミデスモソーム、係留線維の異常について検討する。

脱毛部皮膚からRNAを回収、real-time PCRで毛髪休止期シグナルであるBMP、毛髪再生期シグナルであるTGF- β 2、Wnt、FGFを評価する。

(2) 間葉系幹細胞による脱毛抑制効果

間葉系細胞である毛乳頭細胞は、様々なサイトカインを産生し毛周期をコントロールしている。また、毛乳頭と毛母細胞との間にはCOLVIIが強く発現している。表皮細胞由来COLVIIが欠損している皮膚に真皮側からCOLVIIを補充する目的で、間葉系幹細胞を移植、脱毛改善について検討する。

NC2-cKOマウス脱毛部背部皮膚を免疫不全マウスに移植。

皮膚生着後、間葉系幹細胞を植皮片周囲に週1回皮下注。

発毛が見られたら、適宜生検、COLVII発現を免疫染色で確認、係留線維の構造的変化は電子顕微鏡で解析する。

4. 研究成果

(1) NC2-cKOマウスの臨床像

表皮細胞でのみNC2領域をKOしたNC2-cKOマウスは、生後20週あたりから脱毛、白毛化が出現し、生後30週あたりでは全脱毛状態になることを確認した。

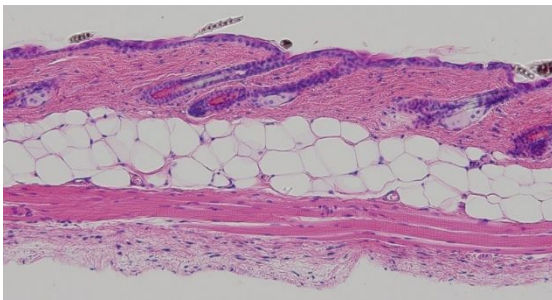


左：コントロールマウス

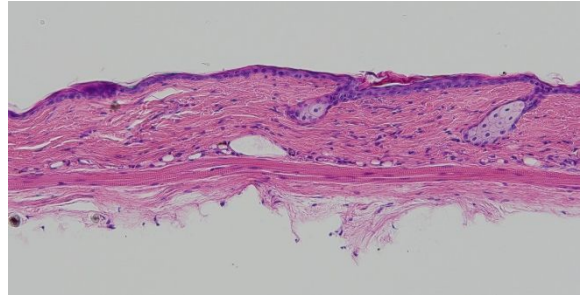
中央、右：NC2-cKO マウス

(2) NC2-cKO マウスの組織学的所見

NC2-cKO マウス背部皮膚では、正常な毛包は見られなかった。また、脂腺はコントロールと比較し数が減少していた。真皮はやや肥厚しているが、皮下脂肪組織はほぼ消失していた。



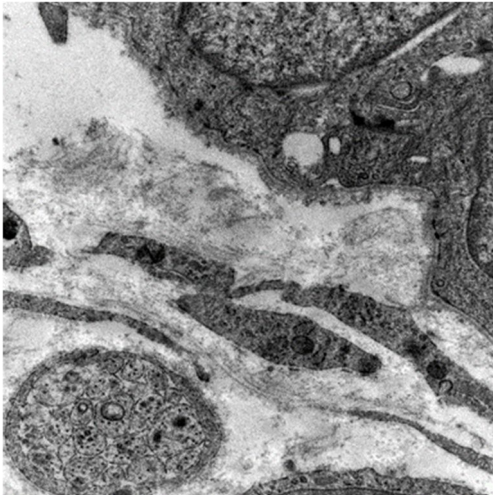
コントロールマウス



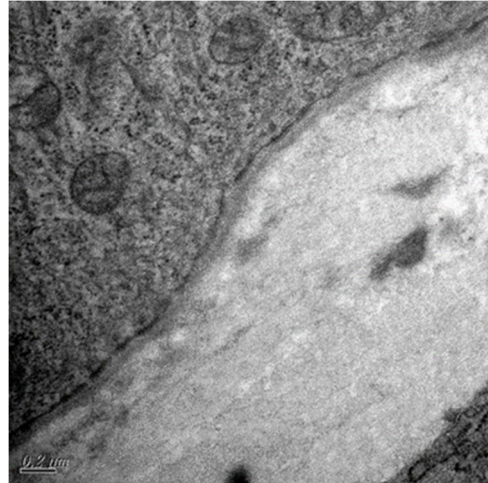
NC2-cKO マウス

(3) NC2-cKO マウスの電子顕微鏡による観察

COLVII-KO マウスでは、lamina densa 下で裂隙が生じているが、NC2-cKO マウスではヘミデスモソーム構造は維持され表皮下水疱形成は見られなかった。



COLVII-KO マウス

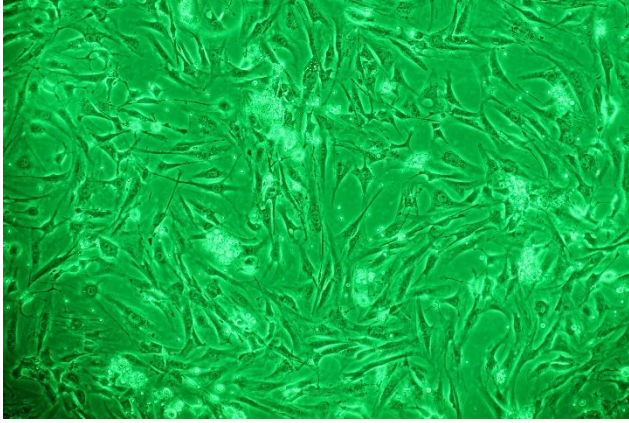


NC2-cKO マウス

(4) 間葉系幹細胞による脱毛抑制効果

まず、C57BL/6 マウスより脂肪組織を採取、間葉系幹細胞を培養、増殖に成功した(図1)。NC2-cKO マウス脱毛部背部皮膚を免疫不全マウスに移植、皮膚生着後、間葉系幹細胞を植皮片周囲に週1回皮下注射した。

経時的に臨床症状を確認したが、明らかな脱毛抑制効果は認められなかった。



☒ 1

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Yao Shogo, Sagara Chihiro, Akasaka Eijiro, Koga Hiroshi, Ishii Norito, Hashimoto Takashi, Sawamura Daisuke	4. 巻 10
2. 論文標題 Case report: A case of epidermolysis bullosa acquisita with IgG and IgM anti-basement membrane zone antibodies relapsed after COVID-19 mRNA vaccination	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 1093827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmed.2023.1093827	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 Kogawa Kazuhito, Matsuzaki Yasushi, Kimura Atsuko, Minakawa Satoko, Nakano Hajime, Ito Koichi, Kijima Hiroshi, Sawamura Daisuke	4. 巻 108
2. 論文標題 Ultraviolet B irradiation leads to the development of experimental bullous pemphigoid targeting BPAG1e	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 112 ~ 115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2022.12.001	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 Kogawa Kazuhito, Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Okamoto Asumi, Ogasawara Shu, Saito Norihiro, Sawamura Daisuke	4. 巻 1
2. 論文標題 Correlation between lactate dehydrogenase and other laboratory data in patients with atopic dermatitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 1 ~ 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12225	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 Murakami Manabu, Murakami Agnieszka M., Nemoto Takayuki, Ohba Takayoshi, Yonekura Manabu, Toyama Yuichi, Tomita Hirofumi, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Hirota Kazuyoshi, Itagaki Shirou, Asada Yujiro, Miyoshi Ichiro	4. 巻 17
2. 論文標題 Enhanced α -adrenergic response in mice with dominant-negative expression of the PKD2L1 channel	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0261668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0261668	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 松崎康司	4. 巻 2
2. 論文標題 抗BP230抗体の病原性	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 皮膚科	6. 最初と最後の頁 180 ~ 187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Murakami Manabu, Murakami Agnieszka M., Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Ohba Takayoshi, Miyoshi Ichirou, Itagaki Shirou, Sakagami Hiroyuki	4. 巻 16
2. 論文標題 Attenuated -adrenergic response in calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV-knockout mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0249932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0249932	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 Makita Eiko, Matsuzaki Yasushi, Fukui Tomohisa, Matsui Akinobu, Minakawa Satoko, Nakano Hajime, Ito Koichi, Kijima Hiroshi, Sawamura Daisuke	4. 巻 141
2. 論文標題 Autoantibodies to BPAG1e Trigger Experimental Bullous Pemphigoid in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1167 ~ 1176.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2020.08.031	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 Minakawa S, Matsuzaki Y, Hashimoto T, Ishii N, Nishie W, Sawamura D.	4. 巻 29
2. 論文標題 A Case of Possible Concurrence of Dermatitis Herpetiformis and Linear Immunoglobulin A / Immunoglobulin G Bullous Dermatitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Dermatovenerol Croat.	6. 最初と最後の頁 116 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Yasushi, Minakawa Satoko, Sagara Chihiro, Matsui Akinobu, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke	4. 巻 60
2. 論文標題 Atypical eosinophilic annular erythema clinically resembling granuloma annulare	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e416 ~ e417
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijd.15591	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 Minakawa S., Matsuzaki Y., Rokunohe D., Kumagai N., Kurose A., Kushibiki M., Kayaba H., Sawamura D.	4. 巻 46
2. 論文標題 Hidradenitis suppurativa with perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens successfully treated with a human anti tumour necrosis factor monoclonal antibody	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1586 ~ 1588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ced.14789	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 Minakawa Satoko, Terui Hinano, Matsuzaki Yasushi, Saito Norihiro, Kayaba Hiroyuki, Sawamura Daisuke	4. 巻 4
2. 論文標題 Microbiological analysis of 1000 Yen banknotes in a hospital environment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 19 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12144	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 Minakawa Satoko, Matsuzaki Yasushi, Suwa Hideyuki, Kono Michihiro, Akiyama Masashi, Sawamura Daisuke	4. 巻 3
2. 論文標題 Mutations in FLG, the gene-coding profilaggrin/filaggrin, are associated with putative hay fever in patients with atopic dermatitis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 98 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12125	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 Nakaminami Hidemasa, Ozawa Kazuya, Sasai Nao, Ikeda Masami, Nemoto Osamu, Baba Naoko, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Shimoe Fumiko, Inaba Yoichi, Kobayashi Yoko, Kawasaki Satoru, Ueki Toru, Funatsu Sakae, Shirahama Shigeo, Noguchi Norihisa	4. 巻 47
2. 論文標題 Current status of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from patients with skin and soft tissue infections in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1280 ~ 1286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15506	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 Fukui Tomohisa, Akasaka Eijiro, Rokunohe Daiki, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Kabashima Kenji, Nakano Hajime	4. 巻 100
2. 論文標題 Analysis of the mechanism underlying a mild phenotype of hereditary coproporphria due to a homozygous missense mutation in the transcription initiation codon of the coproporphyrinogen III oxidase gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 156 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2020.06.006	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 Murakami Manabu, Toyama Yuichi, Yonekura Manabu, Ohba Takayoshi, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Murakami Agnieszka M., Nishi Miyuki, Itagaki Shirou, Tomita Hirofumi, Takeshima Hiroshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Decreased cardiac pacemaking and attenuated α -adrenergic response in TRIC-A knockout mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0244254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0244254	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 Takahashi Mika, Matsuzaki Yasushi, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke	4. 巻 47
2. 論文標題 Partial spontaneous regression of pediatric large fibroblastic connective tissue nevus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e232 ~ e234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15320	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10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 S Minakawa, K Kogawa, Y Matsuzaki, A Okamoto, S Ogasawara, N Saito, D Sawamura.
2. 発表標題 Correlation between lactate dehydrogenase and total IgE levels, TARC levels, and eosinophil count in patients with atopic dermatitis.
3. 学会等名 81st Annual Meeting of the American Academy of Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 S Minakawa, Y Matsuzaki, D Sawamura.
2. 発表標題 Possible correlation of serum anti-BP180-NC16a antibody and thymus and activation-regulated chemokine in patients with bullous pemphigoid.
3. 学会等名 81st Annual Meeting of the American Academy of Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 S Minakawa, Y Matsuzaki, H Suwa, M Kono, M Akiyama, D Sawamura.
2. 発表標題 Mutations in FLG, the gene-coding profilaggrin/filaggrin, are associated with putative hay fever in patients with atopic dermatitis.
3. 学会等名 80th Annual Meeting of the American Academy of Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 皆川智子, 松崎康司, 山下あや, 六戸亜希子, 中野 創, 澤村大輔, 平賀寛人
2. 発表標題 水痘を発症した皮膚筋炎の1例
3. 学会等名 日本皮膚科青森地方会第400回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川和仁, 六戸大樹, 山下あや, 赤坂英二郎, 中島康爾, 松崎康司, 中野 創, 澤村大輔, 原 憲司, 小野 彩
2. 発表標題 腎移植患者に生じた隆起性皮膚線維肉腫
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第399回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎康司
2. 発表標題 水疱性類天疱瘡における抗BP230抗体の病原性
3. 学会等名 第121回日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 皆川智子, 松崎康司, 六戸大樹, 中野 創, 澤村大輔
2. 発表標題 バリシチニブ内服後痒みが改善したアトピー性皮膚炎の2例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第396回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皆川智子, 松崎康司, 六戸大樹, 中野 創, 澤村大輔
2. 発表標題 化膿性汗腺炎の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第393回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皆川智子, 松崎康司, 中野 創, 澤村大輔, 菅場広之, 松木哲文, 西江 渉, 石井文人, 橋本 隆
2. 発表標題 線状 IgA水疱性皮膚症の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第391回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原 憲司, 相樂千尋, 吉川未雪, 六戸亜希子, 六戸大樹, 松崎康司, 中野 創, 澤村大輔, 木村淳也
2. 発表標題 アスピリン負荷試験により診断し得たエビによる食物依存性運動誘発アナフィラキシーの1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会青森地方会第391回例会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 松崎康司	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2
3. 書名 第17版 今日の小児治療指針	

〔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	澤村 大輔 (Sawamura Daisuke) (60196334)	弘前大学・医学研究科・教授 (11101)	

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