

令和 6 年 4 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12626

研究課題名（和文）3次元オルガノイド培養による老化肝細胞機能評価法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a method for evaluating aging hepatocyte function using 3D organoid culture

研究代表者

鵜殿 美弥子 (Udono, Miyako)

九州大学・農学研究院・学術研究員

研究者番号：30815543

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）：ヒト肝細胞由来凝集塊作製について条件検討を重ねてきたが上手くいかなかったため、育毛効果を有するポリフェノールの機能性について研究を行った。

本研究では、ポリフェノールのひとつであるフィセチンによるマウスの発毛促進の分子基盤を明らかにすることを目的とし、マウスの背部皮膚をフィセチンで処理し、処理12日後に発毛を評価した。その結果、フィセチンは表皮形成、細胞増殖、毛包調節、毛周期調節に関連する様々な遺伝子の発現を調節することにより、HaCaT細胞を活性化することが示された。本研究により、ケラチノサイト由来のエクソソームがHFSCsを活性化し、結果として発毛を誘導することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じ、ポリフェノールによる表皮と毛包幹細胞の相関活性化の新たな分子メカニズムを明らかにすることができた。表皮を通過できるポリフェノールは、分子量が400～500以下のもの、および脂溶性であり細胞膜を通過できるものに限られることが知られている。この表皮における物質透過の選択性から、摂取した食品が直接脳に送達し、機能しうるとは考えにくく、塗布したポリフェノールによる発毛メカニズム制御のための、表皮、毛包幹細胞間の相互作用を実現しうる分子メカニズムの提案が必要となる。本研究では、腸管の作り出す細胞外小胞“エクソソーム”が、表皮毛包幹細胞相関活性化に寄与しうることを明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：After repeated condition studies on the preparation of human hepatocyte-derived aggregates were unsuccessful, we conducted research on the functionality of polyphenols with hair-growth effects.

In this study, we aimed to clarify the molecular basis of hair growth promotion in mice by fisetin, one of polyphenols. We treated the back skin of mice with fisetin and evaluated hair growth after 12 days of treatment. The results showed that fisetin activates HaCaT cells by regulating the expression of various genes related to epidermal formation, cell proliferation, hair follicle regulation, and hair cycle regulation. This study demonstrates that keratinocyte-derived exosomes activate HFSCs and consequently induce hair growth.

研究分野：ポリフェノール機能性

キーワード：フィセチン HaCaT細胞

研究目的

真皮ケラチノサイトにおけるテロメラーゼ逆転写酵素 (TERT) レベルの亢進は、発毛促進の新規ターゲットとなりうる。これまでに当研究室では、HaCaT 細胞 (ケラチノサイト) の TERT プロモーターを活性化できる食品成分をスクリーニングするシステムを用いて、フィセチンを同定した。本研究では、フィセチンによるマウスの発毛促進の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

方法

マウスの背部皮膚をフィセチンで処理し、処理 12 日後に発毛を評価した。フィセチンの効果を観察するために、フィセチン処理した皮膚サンプルと HaCaT 細胞の組織化学分析を行った。

成果

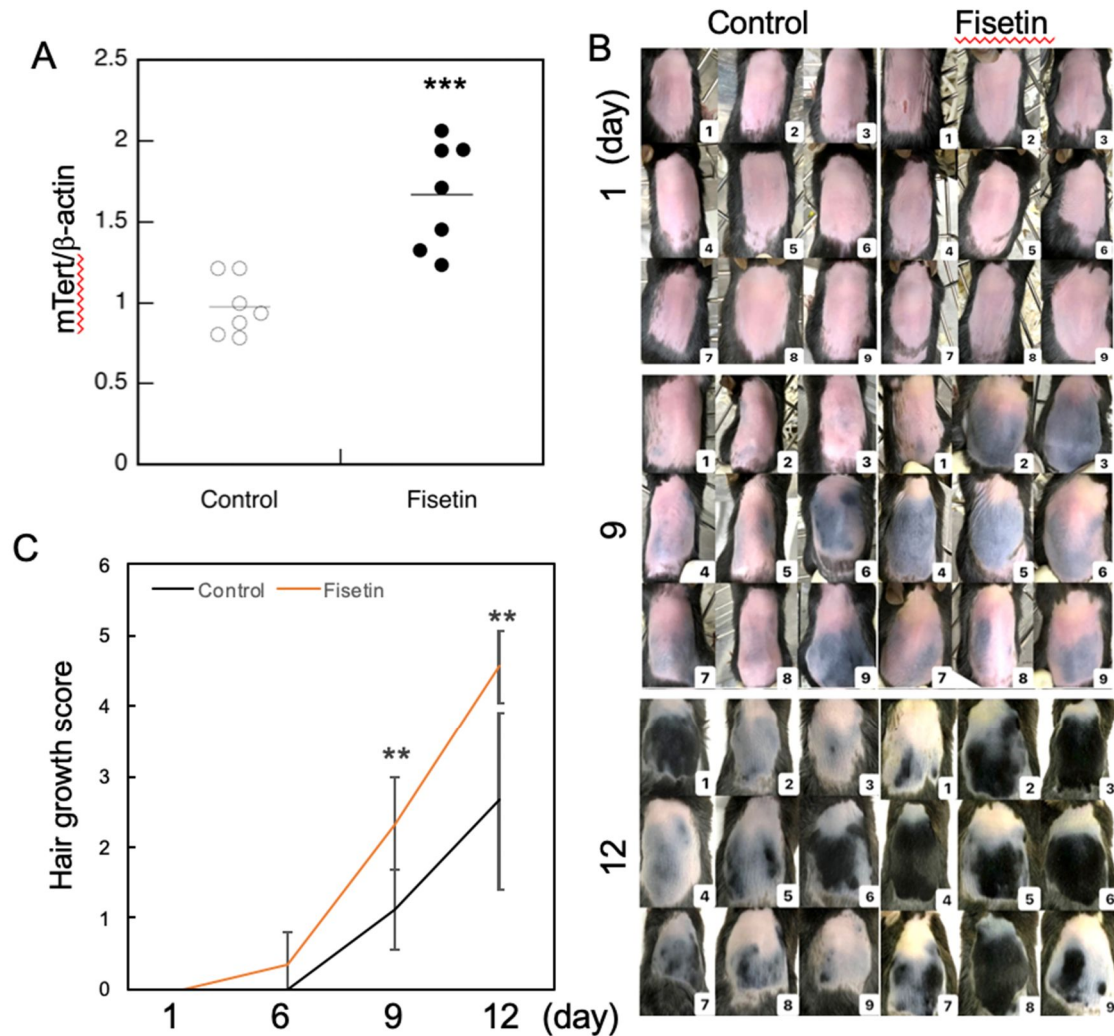


FIGURE 1 | Effect of Fisetin on the expression of *hTERT* and *mTert* in HaCaT cells and the dorsal skin cells of mice. **(A)** The expression of *mTert* in the dorsal skin cells of mice treated with Fisetin was investigated by qRT-PCR. **(B)** After the application of Fisetin on the dorsal skin of C57BL/6 mice for 12 days, the effect on hair growth was evaluated. **(C)** Hair growth score was evaluated. Statistical significance was determined using a two-sided Student's *t*-test. Statistical significance was defined as $P < 0.05$ (** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

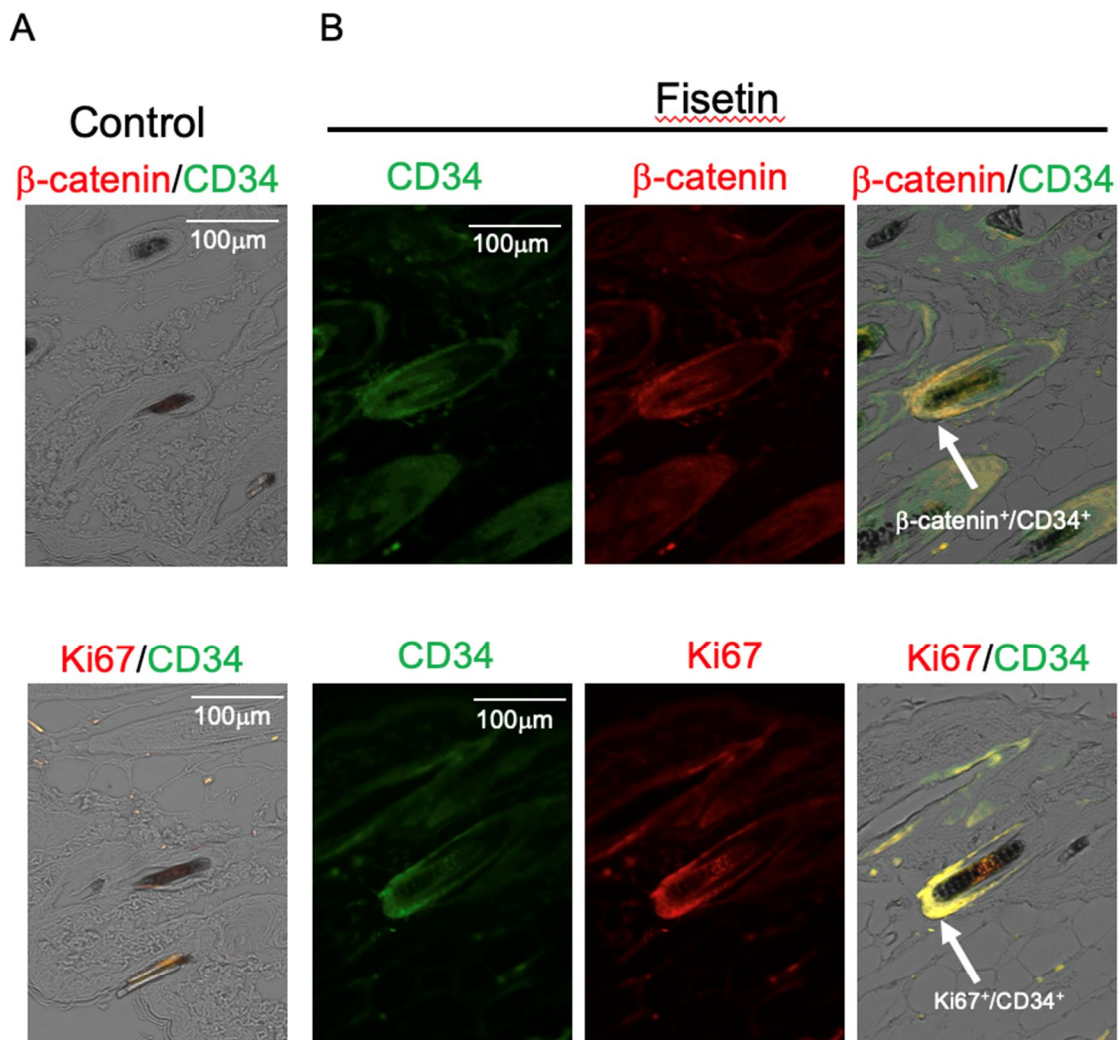


FIGURE 2 | Effect of treatment with Fisetin on the proliferation of cells and expression of marker proteins in the skin sections with hair follicles. Immunohistological analysis of skin sections was performed using anti-β-catenin antibody and anti-Ki-67 antibody (**A**, Control; **B**, Fisetin).

フィセチンは表皮形成、細胞増殖、毛包調節、毛周期調節に関連する様々な遺伝子の発現を調節することにより、HaCaT細胞を活性化することが示された。また、フィセチンはHaCaT細胞からのエクソソームの分泌を誘導し、毛包幹細胞（HFSCs）のβ-カテニンとミトコンドリアを活性化し、増殖を誘導した。さらにこれらの結果は、ケラチノサイトと毛包幹細胞の相互作用の分子基盤としてエクソソームの存在を明らかにし、フィセチンがケラチノサイトに対する作用とともにエクソソームの分泌を引き起こし、それによって毛包幹細胞を活性化することを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kashiwagi Riku, Uono Miyako, Katakura Yoshinori	4. 巻 76
2. 論文標題 Fructobacillus fructosus OS-1010 strain stimulates intestinal cells to secrete exosomes that activate muscle cells	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cytotechnology	6. 最初と最後の頁 209 ~ 216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10616-023-00610-1	査読の有無 無
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 Ishibashi Asuka, Uono Miyako, Sato Mikako, Katakura Yoshinori	4. 巻 15
2. 論文標題 Molecular Mechanisms for the Carnosine-Induced Activation of Muscle?Brain Interaction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1479 ~ 1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15061479	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 Fujiki Tsukasa, Shinozaki Ryosuke, Uono Miyako, Katakura Yoshinori	4. 巻 14
2. 論文標題 Identification and Functional Evaluation of Polyphenols That Induce Regulatory T Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2862 ~ 2862
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14142862	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 Goya Takeshi, Horisawa Kenichi, Uono Miyako, Ohkawa Yasuyuki, Ogawa Yoshihiro, Sekiya Sayaka, Suzuki Atsushi	4. 巻 0
2. 論文標題 Direct Conversion of Human Endothelial Cells Into Liver Cancer Forming Cells Using Nonintegrative Episomal Vectors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep4.1911	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 該当する

1. 著者名 Inotsuka Ryo, Uono Miyako, Yamatsu Atsushi, Kim Mujo, Katakura Yoshinori	4. 巻 13
2. 論文標題 Exosome-Mediated Activation of Neuronal Cells Triggered by -Aminobutyric Acid (GABA)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2544 ~ 2544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13082544	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 該当する

1. 著者名 Ogawa Mizuki, Uono Miyako, Teruya Kiichiro, Uehara Norihisa, Katakura Yoshinori	4. 巻 13
2. 論文標題 Exosomes Derived from Fisetin-Treated Keratinocytes Mediate Hair Growth Promotion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2087 ~ 2087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13062087	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 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
---------	---------