

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591644

研究課題名(和文)皮膚再生機構の解明－毛包細胞内シグナル伝達機構の解析－

研究課題名(英文)Skin regeneration - Signal transduction in hair follicles

研究代表者

板見 智 (ITAMI, SATOSHI)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・寄附講座教授

研究者番号：30136791

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：1.LRIG1という1回膜貫通型蛋白が毛包や腸管の幹細胞に発現しており、各種増殖シグナルを負に制御することで幹細胞の恒常性を維持していることを明らかにした。またMED1という共役因子が毛包幹細胞の恒常性の維持に必須であることを明らかにした。
2.低酸素条件になる退行期～休止期の毛包では、毛乳頭細胞が産生するアディポカインの一種であるLeptinが毛包幹細胞を刺激して成長期を誘導することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：1.Lrig1, a negative feedback regulator of the ErbB receptor family, was highly expressed by hair follicle and intestinal stem cells and controls the size of their niche by regulating the amplitude of growth factor signalling. MED1 is expressed by human epidermal keratinocytes and functions as a coactivator of several transcription factors. Med1 knockout mice provided a strong evidence that MED1 plays an important role in maintaining quiescence of keratinocytes and preventing depletion of the follicular stem cells.
2.Production of leptin, a well-known adipokine, by dermal papilla cells increased under hypoxic condition, suggesting that hypoxia in catagen/telogen phase promotes leptin production by dermal papilla, preparing for entry into the next anagen.

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 皮膚科学

キーワード：毛包 幹細胞 毛周期 男性ホルモン 再生医学 MED1

1. 研究開始当初の背景

1) 成長期への移行や創傷治癒には毛隆起に存在する幹細胞が間葉系の毛乳頭細胞や真皮繊維芽細胞(いわゆる幹細胞のニッチ)からのシグナルにより活性化され再生に必要な娘細胞を供給すると考えられている。この活性化には Wnt - β -catenin 経路が中心的な役割を果たすことが知られている。しかしながら過剰な供給は組織過形成となり時には病変を生じる。一方で、幹細胞の活性化を抑制し、組織の恒常性を維持する機構は毛包を含め未だ多くの組織で未解明である。また毛包や表皮には複数の幹細胞の存在が推定されているが、適切な分子マーカーが乏しいためその詳細は不明である。

2) 毛周期に影響を与える転写因子としては男性ホルモンレセプター(AR)、レチノイドレセプター(RXR)、ビタミンDレセプター(VDR)、ペルオキシゾーム増殖剤応答性レセプター(PPAR)などの核内レセプターが良く知られている。核内レセプターは数々の共役因子と複合体を形成して下流遺伝子の転写を活性化するが、特に Mediator Complex と結合する事が重要である。この複合体の中で MED1 は中心的な役割を果たしている。しかしながら皮膚特に毛包における機能は明らかにされていない。

3) 毛包が再生するためには幹細胞が必須であることは明らかであるが、幹細胞の活性化に関わる細胞内シグナル伝達については未だ不明の点が多い。我々は毛包幹細胞における STAT3 の活性化が毛周期の進行に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。STAT3 活性化に関わる毛乳頭細胞からのシグナルとしては、HGF、Leptin などが想定される。Leptin receptor 欠損マウス(db/db)では STAT3 欠損マウス同様に創傷治癒が遅延することが知られているが、毛周期については明らかにされていない。

2. 研究の目的

1) LRIG1 という 1 回膜貫通型蛋白が毛隆起の直上にある junctional zone に局在する角化幹細胞に特異的に発現していることを明らかにしてきたが、他の臓器での発現や機能について詳細に検討することとした。

2) MED1 の皮膚における機能解析をするために皮膚特異的 MED1 欠損マウスを作成することとした。

3) Leptin の毛包における機能を解析するために Leptin receptor 欠損マウス(db/db)における毛周期を検討することとした。

3. 研究の方法

1) 培養角化細胞における LRIG1 の細胞外領域の切断について、メタロプロテアーゼ阻害剤である TAPI-2 などを用いて検討する。また、LRIG1 の細胞外領域のみを発現するベクターを作成し、角化細胞などに過剰発現させ細胞増殖に影響するか検討する。さらに、LRIG1 ノックアウトマウスを戻し交配し表現型を検討する。

2) Cre-loxP システムを用いて皮膚角化細

胞特異的に MED1 遺伝子を欠失させたマウス(MED1^{epi-/-})を作成し毛周期を検討する。

3) db/db マウスにおける毛周期の検討に加え、ヒト頭部毛包における発現を検討する。更に培養毛乳頭細胞における Leptin 産生を種々の条件下で比較する。

4. 研究成果

1) LRIG1 の細胞外ドメインは ADAM プロテアーゼにより切断され、細胞外ドメインはバラクライン機構で細胞増殖を抑制する事を明らかにした。さらに LRIG1 は腸管の幹細胞にも発現しており、ErbB レセプターを介するシグナルを負に制御することでその増殖を負に制御し、腸管幹細胞の恒常性を維持していることも見出した。

2) MED1 遺伝子を欠失させたマウス(MED1^{epi-/-})では休止期の維持に異常を認め毛包幹細胞が減少していくことを確認した。さらに毛包幹細胞に特異的に発現し恒常性を維持するために必須な Sox9 が MED1 により発現調節されることを明らかにした。

3) db/db マウスにおける毛周期を検討したところ、明らかに成長期の開始が遅延していることを見いだした。さらに、マウス、ヒトともに退行期~休止期にかけて毛乳頭における Leptin 発現が増強することを確認した。退行期毛包は低酸素下にあるが、低酸素条件下で毛乳頭細胞が Leptin を産生することも確認した。

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 9 件)

1. Yi W, Holmlund C, Nilsson J, Inui S, Lei T, Itami S, Henriksson R, Hedman H. Paracrine regulation of growth factor signaling by shed leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1. *Exp Cell Res*. 317: 504-512, 2011.
2. Fushimi T, Inui S, Ogasawara M, Nakajima T, Hosokawa K, Itami S. Narrow-band red LED light promotes mouse hair growth through paracrine growth factors from dermal papilla. *J Dermatol Sci*. 64: 246-8, 2011
3. Inui S, Itami S. Androgen receptor transactivity is potentiated by TGF-1 through Smad3 but checked by its coactivator Hic-5/ARA55 in balding

- dermal papilla cells. **J Dermatol Sci.** 64 (2): 149-151, 2011
4. Inui S, Itami S. Molecular basis of androgenetic alopecia: From androgen to paracrine mediators through dermal papilla. **J Dermatol Sci.** 61:1-6, 2011.
 5. Fushimi T, Inui S, Nakajima T, Ogasawara M, Hosokawa K, Itami S. Green light emitting diodes accelerate wound healing: Characterization of the effect and its molecular basis in vitro and in vivo. **Wound Repair Regen.** 20: 226-35, 2012.
 6. Wong VW, Stange DE, Page ME, Buczacki S, Wabik A, Itami S, van de Wetering M, Poulsom R, Wright NA, Trotter MW, Watt FM, Winton DJ, Clevers H, Jensen KB. Lrig1 controls intestinal stem-cell homeostasis by negative regulation of ErbB signaling. **Nat Cell Biol.** 14: 401-8, 2012.
 7. Nakajima T, Inui S, Fushimi T, Noguchi F, Kitagawa Y, Reddy JK, Itami S. Roles of MED1 in quiescence of hair follicle stem cells and maintenance of normal hair cycling. **J Invest Dermatol.** 133: 354-360, 2013.
 8. Shin H, Yoo HG, Inui S, Itami S, Kim IG, Cho AR, Lee DH, Park WS, Kwon O, Cho KH, Won CH. Induction of transforming growth factor-beta 1 by androgen is mediated by reactive oxygen species in hair follicle dermal papilla cells. **BMB Rep.** 46(9):460-4, 2013.
 9. Inui S, Itami S. Androgen actions on the human hair follicle: perspectives. **Exp Dermatol.** 22(3):168-71, 2013.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Itami S: What's New-Hair Disease, World Congress of Dermatology, Seoul, May

26,2011

2. 板見 智: Pathomechanism of androgenetic alopecia and future prospect for the treatment. 2月25日、沖縄、2011.

〔図書〕(計 10 件)

1. 板見 智: 男性型脱毛症、ガイドライン外来診療 2011、泉孝英編、日経メディカル開発、東京、330-334、2011.
2. 板見 智、乾 重樹: 第21章 皮膚科疾患、村田雄二編、合併症妊娠、改訂3版、メディカ出版、大阪、425-439、2011.
3. 板見 智: 毛の加齢メカニズムと対策・治療、見た目のアンチエイジングー日本抗加齢医学会分科会、文光堂、東京、58-64、2011.
4. 中島武之、板見 智: 円形脱毛症の全身療法、皮膚科臨床アセット6ー脱毛症治療の新戦略、中山書店、東京、93-97、2011.
5. 板見 智: 男性型脱毛症の発症機序と遺伝子解析、皮膚科臨床アセット6ー脱毛症治療の新戦略、中山書店、東京、109-112、2011.
6. 板見 智: 性毛性多毛症、皮膚科診療カラーアトラス体形8、講談社、東京、63、2011.
7. 板見 智: 脱毛症の外用療法、巧みに学ぶ皮膚科外用療法、全日本病院出版会、東京、25-30、2012.
8. 乾 重樹、板見 智: 臭いの生じる原因、腋臭症、多汗症、全日本病院出版会、東京、4-7、2012.
9. 板見 智: 性ホルモンからみた思春期の皮脂・毛包の特徴は？、思春期の皮膚トラブル FAQ、宮地良樹編、診断と治療社、東京、8-15、2012.
10. 板見 智: 男性型脱毛症 (AGA) の治療、1冊でわかる最新皮膚科治療、皮膚科サブスペシャルティシリーズ、宮地良樹、清水宏編、文光堂、東京、296-298、2013.

〔産業財産権〕
出願状況（計 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 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〕

ホームページ等
<http://www.r-derma.med.osaka-u.ac.jp/>
6. 研究組織

(1)研究代表者
板見 智 (ITAMI SATOSHI)

研究者番号： 30136791

(2)研究分担者
乾 重樹 (INUI SHIGEKI)

研究者番号： 30324750

(3)連携研究者
()

研究者番号：