

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790376

研究課題名(和文)ヘミデスモソーム構成分子の毛包幹細胞分裂における役割の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the role of cell polarity in hair follicle stem cells through hemidesmosomal components

研究代表者

松村 寛行(Hiroyuki, Matsumura)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：70581700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：細胞極性は、哺乳類の幹細胞の自己複製と分化の制御に重要な役割を果たすことが分かっているが、成体の毛包幹細胞におけるその制御と役割は、全く明らかにされていない。基底膜ヘミデスモソーム構成成分である17型コラーゲンは、表皮基底膜細胞を基底膜へと固定する役割をもつことが知られている。我々は、17型コラーゲンを解析したところ、毛包幹細胞の維持に必須であることを明らかにしてきている(Cell Stem Cell 2011)。本研究では、17型コラーゲンが、どのようにして毛包幹細胞の細胞極性制御に関わるのか、また、その細胞極性の欠損により、どのような表現型を示すのかを現在、解析している。

研究成果の概要(英文)：Cell polarity plays important functional roles in differentiation and proliferation of invertebrates and mammalian stem cells, however their function and maintenance in hair follicle stem cells (HFSCs) are now unclear. COL17A1 is one of the hemidesmosomal transmembrane proteins, which plays a critical role in maintaining the linkage between the intracellular and the extracellular structural elements, involved in epidermal adhesion. Previously, we showed that COL17A1 is essential for maintenance of hair follicle stem cells (Cell Stem Cell 2011). Now, we are analyzing 'How COL17A1 regulates the fate of hair follicle stem cells by focusing on cell polarity'.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：実験病理学

キーワード：組織幹細胞

### 1. 研究開始当初の背景

幹細胞は、自己複製を行うと同時に分化細胞を供給する能力を持つ細胞であり、一般的には普段から細胞極性を維持する事で、不均等分裂を行っていると考えられてきた。実際、*Drosophila* 生殖幹細胞やマウス神経幹細胞において、不均等分裂を行なっていることが示されている。また、マウスの表皮では表皮基底細胞が不均等分裂を行い、Notch シグナルを介して表皮角化細胞の分化制御を行っているという報告 (Williams et al., Nature 2011) がある。しかし、その一方で、マウス毛包に存在する色素幹細胞では、その運命は幹細胞ニッチによって優性に制御されており (Nishimura et al., Nature, 2002) マウス皮膚の毛包幹細胞において、幹細胞は二段階の活性化を受けることで細胞集団として不均等性を示すものの、均等分裂を行なっている可能性も示唆されるようになった (Zhang et al., Cell Stem Cell 2009)。実際、小腸粘膜の組織幹細胞と考えられている Lgr5 陽性細胞において均等分裂の存在が証明されている (Snippert et al., Cell 2011)。このような背景をふまえて、毛包などの組織では幹細胞の均等分裂と不均等分裂を適切に制御する仕組みが存在する可能性を考えるに至った。

毛包幹細胞は毛包なかほどのバルジ領域に局在し、可視化が容易で幹細胞分裂の極性解析に適する反面、毛周期の中で限定された期間において限られた毛包幹細胞集団においてのみしか分裂が観察がされない。その解析の困難さから、毛包幹細胞にそもそも分裂極性が存在するのかわからず明らかにされておらず、幹細胞運命制御との関わりは不明である。

申請者らは、マウス毛包幹細胞が、ヘミデスモソーム (HD) と呼ばれる細胞-マトリックス間接着構造を持ち、構成分子として 17 型コラーゲン (Col17a1) を高発現しており (図 1)、毛包幹細胞の自己複製制御において必須であること、その欠損により毛包幹細胞が枯渇し脱毛を発症することを最近はじめ明らかにしている (Nishimura et al., Cell Stem Cell, 2010, Tanimura et al., Cell Stem Cell 2011)。ヘミデスモソームは基底細胞を基底膜に強固に固定する役割が知られているが、ヘミデスモソームが直接に細胞極性制御において何らかの役割を果たしているのかわからずについては知られていない

### 2. 研究の目的

本研究では、毛包幹細胞のヘミデスモソームの構成蛋白である 17 型コラーゲン

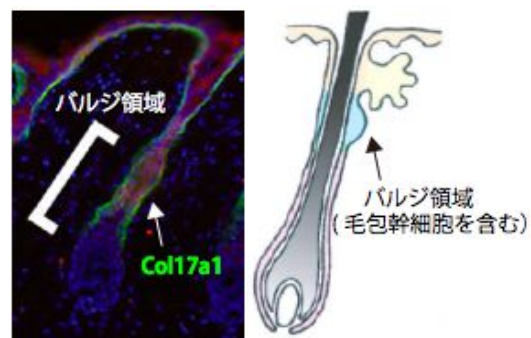
(Col17a1) および、インテグリン a6 (ITGA6) に着目し、成体内で Col17a1, ITGA6 の毛包幹細胞特異的な欠損を誘導できるマウスを作出し、毛包幹細胞の運命解析と極性蛋白の局在解析を行う。ヘミデスモソームが毛包幹細胞の不均等分裂に関わるのか、どのように自己複製を制御しているのか、その破綻は癌発生と関連するのかを明らかにする。これにより、ヘミデスモソームの未知の役割を明らかにし、幹細胞維持や癌の発生を制御する方法の開発へと繋げる。

### 3. 研究の方法

毛包幹細胞の維持制御においてヘミデスモソーム構成蛋白が果たす役割を解明するために、まず、効率的に極性を検出できる免疫染色による検出系を立ち上げ、今まで全く明らかにされていなかった毛包幹細胞における不均等分裂の実態を明らかにする。次に、ヘミデスモソーム構成因子である Col17a1, ITGA6 の毛包幹細胞特異的な欠損マウスを作製し、免疫染色による検出系と組み合わせることにより、Col17a1, ITGA6 が毛包幹細胞の不均等分裂をどのように制御しているのか解析する。毛包幹細胞における分裂極性の役割を解析する計画である。

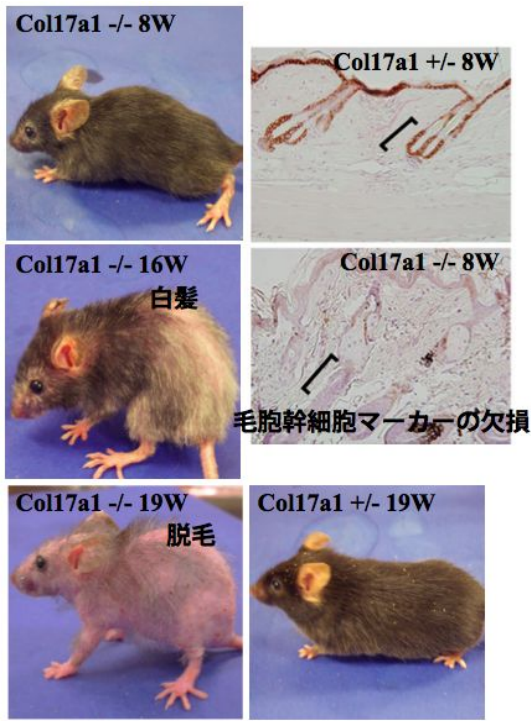
### 4. 研究成果

細胞極性は、哺乳類の幹細胞の自己複製と分化の制御に重要な役割を果たすことが分かってきているが、成体の毛包幹細胞におけるその制御と役割は、全く明らかにされていない。基底膜ヘミデスモソーム構成成分である 17 型コラーゲンは、表皮基底膜細胞を基底膜へと固定する役割をもつことが知られている。我々は、17 型コラーゲンを解析したところ、毛包の基底膜にも発現しており (図 1)、



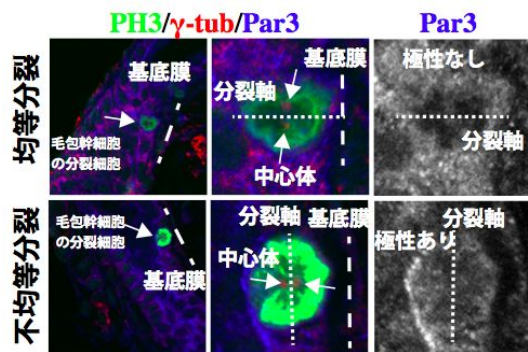
(図 1)

毛包幹細胞の維持に必須であること (図 2) を明らかにしてきている (Cell Stem Cell 2011)。本研究では、17 型コラーゲンが、どのようにして毛包幹細胞の細胞極性制御に関わるのか、また、その細胞極性の欠損により、どのような表現型を示すのかを解析している。



(図 2)

初めに、免疫染色法により毛包幹細胞の細胞極性を解析したところ、毛包幹細胞は、活発に増殖する時期において、基底膜を軸として、均等分裂および不均等分裂を引き起こすことが分かった(図3)。



(図 3)

17型コラーゲンが、どのようにして、毛包幹細胞の細胞極性制御に関わるのか検討するために、毛包幹細胞特異的なケラチン15プロモーター化で、薬剤依存的に17型コラーゲンを欠損するマウス(*Col17a1 flox/flox, K15crePR*)を作製した。このマウスの毛包幹細胞は、異所性に表皮角化細胞へと分化し、このマウスは、最終的に脱毛に至った。現在このマウスを用いて、毛包幹細胞の均等分裂、不均等分裂に異常が生じているかどうかを検討している。

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 1 件)

1, Shehata M, Matsumura H, Okubo-Suzuki R, Ohkawa N, Inokuchi K.

Neuronal-stimulation induces autophagy in hippocampal neurons that is involved in AMPA receptor degradation after chemical LTD.

Journal of Neuroscience 32(30):10413-22. (2012) (査読有り)

[学会発表](計 5 件)

1. Hiroyuki Matsumura #, Mohri Yasuaki #, Nguyen Thanh Binh #, Morinaga Hironobu, Emi K Nishimura

Defective maintenance of COL17A1 in hair follicle stem cells orchestrates hair follicle aging

12th Stem Cell Research Symposium

2014年5月30日 ~ 5月31日 Fukuoka

2. Nguyen Thanh Binh #, Hiroyuki Matsumura #, Yasuaki Mohri #, Emi K. Nishimura,

The mechanisms of hair follicle aging and stem cell regulation

The 8th Annual Meeting of Nine Life Science Institutes

Affiliated with the National University in Japan (Kyoto) 2013年06月27日 ~ 06月28日 Kyoto

3. Mohri Yasuaki #, Nguyen Thanh Binh #, Hiroyuki Matsumura #, Yuko Tadokoro, Mayumi Ito, Jan Hoeijmakers, Emi Nishimura

The fate switch of hair follicle stem cells to the epidermis underlies hair follicle aging and baldness

The 11th Stem Cell Research Symposium

2013年05月17日 ~ 05月18日 Tokyo

4. Shehata M. , Matsumura H.,  
Okubo-Suzuki R., Ohkawa N., and Inokuchi  
K.:  
Neuronal-stimulation induces autophagy in  
hippocampal neurons that is involved in  
AMPA receptor degradation after chemical  
LTD.

**第35回日本神経科学会**

2012年09月18日～09月21日 **名古屋**

5. Shehata M. , Matsumura H.,  
Okubo-Suzuki R., Ohkawa N., Inokuchi K.:  
Neuronal-stimulation induces autophagy in  
hippocampal neurons that is involved in  
AMPA receptor degradation after chemical  
LTD.

Neuroscience 2012

2012年10月13日～10月17日 USA, New  
Orleans

〔図書〕(計 1 件)

松村寛行、毛利泰彰、西村栄美  
毛髪再生のメディカルサイエンス:毛は  
生やせるか?色素幹細胞とそのニッチ:毛  
包幹細胞の新しい役割  
細胞工学 32(10):1038-1041 (2012)

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

**東京医科歯科大学 難治疾患研究所 幹細胞**

**医学分野** <http://www.tmd.ac.jp/mri/scm/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

松村 寛行 (HIROYUKI MATSUMURA)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号:《研究者番号》70581700

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし