

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440115

研究課題名(和文)毛の種類を決定する制御機構の解析

研究課題名(英文)Analysis of hair types control mechanism

研究代表者

豊島 公栄 (TOYOSHIMA, Koh-ei)

北里大学・医学部・非常勤客員講師

研究者番号：00599243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：毛を作り出す微細な器官である毛包は、機能および形質により分類される複数の毛種を作り出す。しかし、成体毛包における毛種運命記憶の維持機構は未だに解明されていない。本研究において、毛包の間葉細胞置換による毛種転換技術を開発し、毛種を決定する運命記憶細胞が毛乳頭であることを示した。さらに、毛乳頭細胞の運命記憶に従う毛種決定と維持機能を定性的・定量的に評価可能となり、毛種決定機構の遺伝子解析の基盤が確立された。

研究成果の概要(英文)：The hair follicles, which produce various types of hair shaft in the hair bulb through the epithelial-mesenchymal interaction, are structurally and functionally associated into an integumentary organ system, composed of skin and various ectodermal mini-organs. It is well known that the organ-inductive epithelial and mesenchymal stem cells provide a source of differentiated hair follicle cells that enable hair cycling to occur over the lifetime of a mammal. We have demonstrated fully functional hair organ regeneration via the intracutaneous transplantation of a bioengineered hair follicle germ, which was reconstituted with adult epithelial and mesenchymal stem using by organ germ method. In this study, we demonstrate that the dermal papilla cells determine the hair types, which have macroscopic and microscopic features and hair type specific hair cycling patterns.

研究分野：再生医療

キーワード：運命決定 器官発生 毛包 毛乳頭 毛包幹細胞

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の毛は体表面を覆い外傷や紫外線などから皮膚を防御するのみならず、体温調節や触覚などの多彩な機能を持つ。毛を作り出す外胚葉性付属器官である毛包は、機能および形質により分類される複数の毛種を作り出すように、胎児期の毛包器官発生プロセスにおいて体表面の領域特異的に運命決定され特殊化すると考えられている。成体毛包において毛の種類の決定は、間葉細胞である毛乳頭細胞が担うと考えられているものの、古典的な上皮と間葉組織を組み換えることによる実験的事実で示されているのみで、器官発生プログラムにおける毛乳頭細胞による毛包運命の決定や、成体毛包における毛種運命記憶の維持機構は未だに解明されていない。

毛包は、器官全体を再生可能な複数種の幹細胞を個体の生涯にわたって維持しており、器官発生期の運命決定に従って毛の種類を維持していると考えられている。毛は、硬毛である頬髭と軟毛である体毛の二種に大別され、体毛は、形態および機能の異なる3種類 (Guard, Awl, Zigzag) に分類される。毛種ごとに毛包の器官発生時期は異なり、頬髭は胎齢 12.5 日、3 種類の体毛は胎齢 14.5 日 - 18.5 日にそれぞれの毛種の毛包器官原基が誘導されることが知られている。頬髭と大型の体毛 (Guard, Awl) の毛乳頭細胞は神経提由来であり発生期より Sox2 陽性であるが、胎児期の最末期に発生する小型の体毛である Zigzag 毛のみ Sox2 を発現せず由来は明らかとなっていない。器官レベルの運命制御メカニズムの解明は、幹細胞の運命決定および維持制御機構および発生の基本原則を解明することであると考えられる。

本研究グループは、器官発生プログラムを人為的に再現して器官のもととなる器官原基を再生する「器官原基法」を開発し (Nature Methods, 2007)、毛包の成体幹細胞より毛包原基を再生して成体皮膚内移植することにより機能的な毛の再生 (Nature Communications, 2012) を世界に先駆けて示し、器官発生プログラムの再現による歯や毛といった外胚葉性器官の機能的な再生の概念を実証してきた。また、器官原基法による毛髪の再生において、体毛ならびに頬髭の毛包上皮細胞と間葉細胞より器官原基法を用いて再生したそれぞれの毛包原基は、由来する毛包の毛種と一致した毛を作る。本研究課題では、毛包の成体幹細胞による器官再生技術を基盤として、毛包器官の運命決定および維持における毛包上皮幹細胞と毛包間葉細胞の相互作用による制御機構の解明を進めることを研究課題とした。

2. 研究の目的

毛は複数の種類に分類され、胎児期においてそれぞれの毛包ごとに作り出す毛種が運命決定され、個体の生涯を通じて運命記憶さ

れる。器官レベルの運命制御メカニズムの解明は、幹細胞の運命決定と維持制御機構、および発生の基本原則を解明することであると考えられる。本研究グループは、胎児時のみ見られる器官発生を再現して器官のもととなる器官原基を再生する「器官原基法」を開発し、成体幹細胞より毛包全体を再生可能であることを示した。本研究課題では、毛包の成体幹細胞による器官再生技術を基盤として、毛包器官の運命決定と維持における毛包上皮幹細胞と毛包間葉細胞の相互作用による制御機構の解明を目指して (1) 毛種の異なる成体毛乳頭細胞の置換による毛種運命記憶細胞の解析、(2) 毛種の運命決定と維持の評価系の開発、(3) 再生毛包の発生プログラムにおける毛種決定と維持に関わる遺伝子発現の解析を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 毛種の異なる成体毛包上皮幹細胞と毛乳頭細胞の相互置換による毛種運命記憶細胞の解析

毛乳頭細胞が毛種運命記憶・維持を担い、毛種を決定するかどうかを解析するために、頬髭および各種体毛由来細胞を調製して、上皮性幹細胞と毛乳頭細胞の組み合わせを変えた再生毛包原基により毛を再生した。再生毛包原基はヌードマウス皮内移植を行い、毛球部の再生および毛幹伸長について実体顕微鏡を用いて経時的に観察した。再生した毛幹の種類を光学顕微鏡による構造的特徴により解析した。

(2) 毛種の運命決定と維持の定性的・定量的評価系の開発

再生毛包原基を構成する毛包上皮幹細胞および毛乳頭細胞が毛種決定に与える効果を、精密に解析するために、毛種特徴的な毛周期パターンの変化を解析することにより、毛種変化の定性的・定量的評価系を構築した。

また、ヒト毛乳頭細胞を用いることにより、より普遍的な遺伝子候補を選択するために、培養ヒト毛乳頭細胞とマウス頬髭不変領域との再構成を行い、ヌードマウス背部皮膚内移植による毛包再生を行った。再生毛包における毛乳頭細胞の由来を識別するために、核型解析、Sox2 抗体およびヒト特異的ミトコンドリアマーカー抗体を用いた免疫組織化学を行った。

4. 研究成果

(1) 毛種の異なる成体毛包上皮幹細胞と毛乳頭細胞の相互置換による毛種運命記憶細胞の解析

毛包の間葉細胞置換による毛種転換技術を開発し、毛種を決定する運命記憶細胞が毛乳頭であることを示した (図 1)。

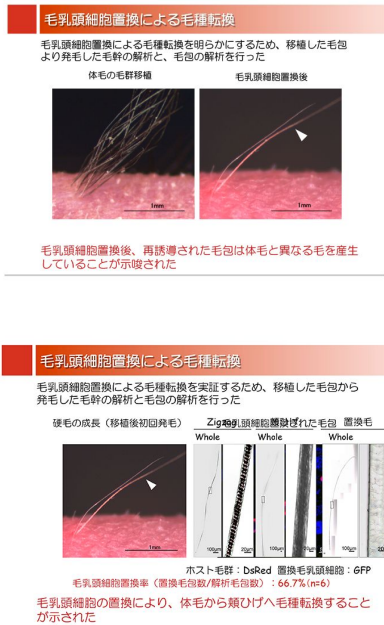


図1 毛包間葉置換再構成による毛種転換

(2) 毛種の運命決定と維持の定性的・定量的評価系の開発

毛種特異的な毛幹の各種性状を定量的に解析する評価系を構築し、毛種の構造的特徴は毛乳頭細胞により運命記憶されていることが示された。研究計画にしたがって毛種特徴的な毛成長パターンの定量的評価系を構築して解析したところ、移植毛包は毛種特異的な毛成長パターンを維持することが示された(図2)。さらに、体毛から頬ヒゲへと毛種転換した毛包の免疫組織化学的解析により、大型毛に特異的な転写因子である Sox2 発現が毛乳頭細胞において維持されることが示された。これらの研究成果により毛乳頭細胞の運命記憶に従う毛種決定と維持機能を定性的・定量的に評価可能となった。

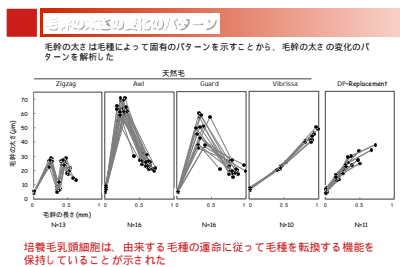


図2 毛種依存的毛成長パターン

(3) 再生毛包の発生プログラムにおける毛種決定と維持に関わる遺伝子発現の解析

毛乳頭細胞の毛種運命決定機能とその獲得維持に主導的な役割を果たす遺伝子の特

定と機能解析において、動物種を超えた普遍性を有する遺伝子を特定することが重要である。そこで、ヒト頭髮由来毛乳頭細胞を用いて(1)の毛包間葉細胞置換実験を行い、マウス毛乳頭細胞と同様に毛包再生可能であることが示された。現在、マウスを用いて毛種決定および維持に関わる遺伝子解析に向けて推進中であるが、ヒト細胞の結果を参照して解析を進めることにより、より利用価値の高い候補遺伝子を特定して機能解析する可能性が示された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

吉竹 俊裕、武田 啓、根本 充、秋本 峰克、島倉 康人、杉本 孝之、柳澤 正之、豊島 公栄、辻 孝、佐藤 明男、組織移植を利用したヒト皮膚系保有 SCID マウスの開発、第 15 回 日本再生医療学会、大阪市・大阪国際会議場、2016 年 3 月 19 日

豊島 公栄、シンポジウム I 毛髪の器官再生医療の実現に向けた研究戦略と展望、第 20 回日本臨床毛髪学会、高知市・総合あんしんセンター、2016 年 12 月 5 日

浅川杏祐、豊島 公栄、手塚 克成、辻 孝、毛包間葉細胞置換による毛種転換に関する研究、第 14 回 日本再生医療学会、横浜市・パシフィコ横浜、2015 年 3 月 20 日

豊島 公栄、辻 孝、毛髪の器官再生医療の実現に向けた研究戦略と展望、第 19 回 日本臨床毛髪学会(シンポジウム)、岡山市・岡山コンベンションセンター、2014 年 11 月 23 日

豊島 公栄、佐藤 明男、武田 啓、辻 孝、毛髪の器官再生医療実現に向けた取り組み、第 57 回日本形成外科学会総会・学術集会(ミニシンポジウム)、長崎市・長崎ブリックホール、2014 年 4 月 9 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊島 公栄 (TOYOSHIMA, Koh-ei)
北里大学・医学部・非常勤客員講師
研究者番号：00599243

(2)研究分担者

辻 孝 (TSUJI, Takashi)
理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー
研究者番号：50339131