

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860957

研究課題名(和文)新規毛周期調節因子Tsukushiによる毛髪再生メカニズムの解明

研究課題名(英文)Clarification of hair regeneration mechanism by hair cycle control molecule Tsukushi

研究代表者

新森 大佑(Niimori, Daisuke)

熊本大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：70635789

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを用いた創傷後に毛包再生におけるTsukushiの局在・発現様式の観察を行った結果、創傷治癒の際に特異的に発現するマクロファージや筋繊維芽細胞、再生表皮、再生毛包に連続的に発現していることが明らかとなった。また、Real time PCRの結果TsukushiKOマウスにおいて、IL-6, STAT3, TGF- β などの炎症シグナルに働く分子の発現上昇が見られた。さらにin vitroの繊維芽細胞を用いた培養実験において、通常TGF- β 下で繊維芽細胞は筋繊維芽細胞へ分化することが知られているが、Tsukushiの添加はTGF- β 下において繊維芽細胞が筋繊維芽細胞へ分化するのを抑制した。

研究成果の概要(英文)：Previously, we reported that Tsukushi (TSK), a member of the small leucine-rich repeat proteoglycan family, functions as a key extracellular coordinator of multiple signalling networks. In this study, we investigated the contribution of TSK to hair regeneration. Analysis of wound tissue in heterozygous TSK-lacZ knock-in mice revealed neopidermis, macrophages, myofibroblasts and new born hair follicles. Quantitative PCR and in vitro cell induction experiments revealed that TSK controls macrophage function and myofibroblast differentiation by inhibiting TGF- β 1 secreted from macrophages.

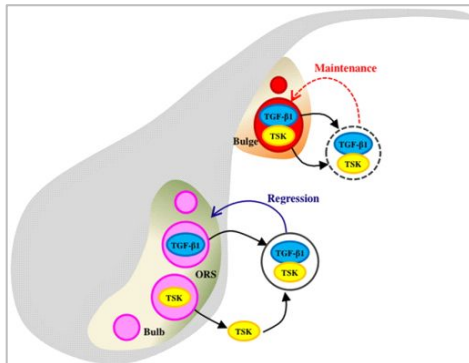
研究分野：皮膚科学

キーワード：Tsukushi 毛髪再生 創傷治癒

1. 研究開始当初の背景

近年医学の進歩により治療可能となった疾患もあるが、未だ根本的治療がなく一日も早い解決が望まれる疾患が数多く存在する。特に組織・臓器を構成する細胞が何らかの原因で変性・脱落し機能不全に陥った場合、根本治療をするためには失われた細胞を補充し組織を再構築しなくてはならない。例えば熱傷で皮膚組織を損傷した場合、手術や皮膚移植が行われるが、その際移植した組織や手術痕の組織から汗腺・毛包などの付属器が再生しにくいと、搬痕部乾燥や体温調節が難しいなどの問題が起きている。このような問題を解決するには、毛包をはじめとした付属器の再生、損傷・修復機構を明らかにすることが重要となる。

申請者は以前、Tsukushi が形態発生及び毛周期において毛包の限局した領域に発現し、TGF- β 1 の活性化を調節することで毛周期中の分化を制御することを示した (**Niimori et al., *Developmental Biology*, 2012**)。



Tsukushi は我々の研究グループがニワトリ胚のレンズを用いたシグナルシーケンストラップ法を行い、単離してきた新規分泌型蛋白質である。これまで Tsukushi が分泌型の small leucine-rich repeat プロテオグリカンファミリーの一員であり、重要なシグナルカスケードを制御していることを報告している (Hocking et al., 1998; Schaefer and Iozzo, 2008; Merline et al., 2009)。アフリカツメガエル胚を用いた mRNA 微量注入法や生化学的解析では、Tsukushi が新しいタイプの BMP アンタゴニストであることが明らかになった (Ohta et al, 2004)。さらに TGF- β ファミリーに属する Vg1 と相互作用して、原始線条とオーガナイザーの形成に関与することを見出した (Ohta et al, 2006)。また、Tsukushi が Wnt 受容体である Frizzled に細胞外で直接結合して、Wnt シグナリングを阻害す

る機能を持つことが明らかとなった (Ohta et al, 2011)。よって、Tsukushi はこの細胞外領域において様々なシグナル伝達経路に属する分子群と特異的に結合し、これら“シグナル経路の相互連絡を仲介する鍵分子”であるといえる。

Tsukushi が形態発生及び毛周期において毛包の限局した領域に発現すること、さらには先行研究において、損傷皮膚組織中の再生毛包領域に Tsukushi が強く発現していたことから、Tsukushi が毛髪の再生において重要な働きを担っているのではないかと考え、毛髪の発生・再生時における Tsukushi の機能を明らかにすることで、将来の毛髪再生医療に役立つ分子メカニズムを解明できるのではないかとこの着想に至った。

2. 研究の目的

本申請は毛髪の発生・再生時における Tsukushi の機能を明らかにし、将来の毛髪再生医療に役立つ分子メカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

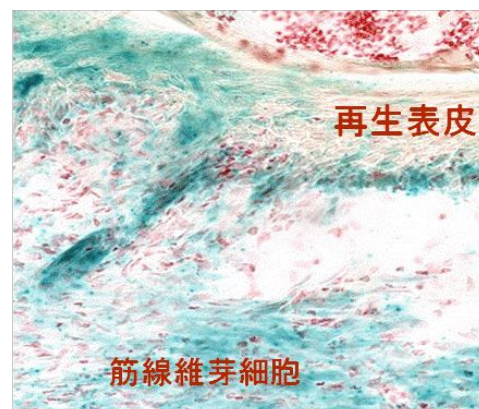
ヒト正常毛包・癒傷組織における Tsukushi の局在・発現様式の観察。

生後3週齢の Tsukushi KO マウスに創傷を作成し、再生毛包出現までの、Tsukushi の発現様式を観察する。

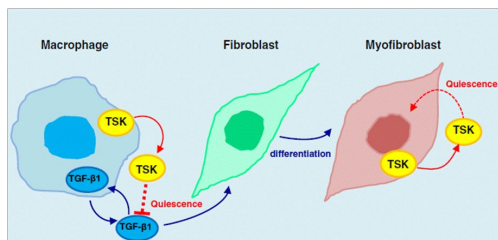
WT マウス、TSK KO マウスにおける創傷治癒時に発現する分子の mRNA 発現解析。

4. 研究成果

ヒト正常毛包において、バルジ領域、毛球部に発現していた。また、マウスにおいて創傷治癒の際に特異的に発現するマクロファージや筋繊維芽細胞、再生表皮、再生毛包に連続的に発現していることが明らかとなった (**Niimori et al., *Journal of Cell Communication and Signaling*, 2014; 発表論文欄**)。



Real time PCR の結果、創傷後の TsukushiKO マウスにおいて、IL-6, STAT3, TGF- β などの炎症シグナルに働く分子の発現上昇が見られた。さらに invitro の繊維芽細胞を用いた培養実験において、通常 TGF- β 下で繊維芽細胞は筋繊維芽細胞へ分化することが知られているが、Tsukushi の添加は TGF- β 下において繊維芽細胞が筋繊維芽細胞へ分化するのを抑制した。



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 2 件)

著者名: Niimori D, Kawano R,

Niimori-Kita K, Ihn H, Ohta K.

論文名: Tsukushi is involved in the wound healing by the expression of cytokines and growth factors

掲載誌名: Journal of Cell Communication and Signaling, Elsevier B.V.,

巻, 最初と最後の頁: 8:173-177.

発表年: 2014 年

査読あり

著者名: Niimori-Kita K, Nakamura F,

Koizumi D, Niimori D.

論文名: Nuclear Phosphoproteomics Features the Novel Smoking Markers in Mouse Lung Tissue Following Subacute Phase Exposure to Tobacco Smoke

掲載雑誌: Journal of Bioanalysis and Biomedicine

巻, 最初と最後の頁: 8:9-16.

発表年: 2016 年

査読あり

[学会発表](計 3 件)

Concurrent session 口頭発表: Daisuke

Niimori, Azusa Miyashita, Satoshi

Fukushima, Hironobu Ihn

演題: Tsukushi controls the hair cycle by regulating TGF- signaling

学会名: 第 44 回欧州研究皮膚科学会議 デンマーク 2014 年 9 月 10 日 ~ 13 日

ワークショップ招待講演: Daisuke

Niimori, Rie Kawano, Athary Felemban, Kanako Niimori-Kita, Hironobu

Ihn, Kunimasa Ohta

演題: Tsukushi controls the hair cycle by regulating TGF- signaling

学会名: 第 37 回分子生物学会 パシフィコ横浜 2014 年 11 月 27 日

口頭発表: Daisuke

Niimori, Rie Kawano, Kanako Niimori-Kita, Kunimasa Ohta, Hironobu Ihn

演題: Tsukushi は TGF シグナルを制御しながら毛周期を調節する

学会名: 第 22 回毛髪科学研究会 東京(大手町サンケイプラザ) 2014 年 11 月 29 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 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 0 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

6 . 研究組織

(1)研究代表者

新森大佑 (Niimori Daisuke)

熊本大学・医学部付属病院・特任助教

研究者番号：70635789

(2)研究分担者：無

(3)連携研究者：無