

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670533

研究課題名(和文)毛包バルジ幹細胞の特性決定における腱様機能獲得の意義

研究課題名(英文)Role of tendon-like functions of hair follicle stem cells in the acquisition of stem cell properties

研究代表者

藤原 裕展 (Fujiwara, Hironobu)

国立研究開発法人理化学研究所・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：20615744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：毛包バルジ部に存在する表皮幹細胞は、発生期を通して幹細胞の性質を獲得するが、そのメカニズムはよく知られていない。本研究では、毛包幹細胞が表皮細胞としての性質に加え、立毛筋制御のための腱様機能を持つという多機能性が幹細胞としての性質決定に関わるとの仮説を立て、それを検証した。バルジ表皮幹細胞の遺伝子発現プロファイルを他の細胞と比較したところ、バルジ幹細胞で筋肉-組織接続部に特徴的な遺伝子の発現が強く誘導されていることが明らかとなった。さらに、バルジで発現する腱組織形成に重要な転写因子Scxの欠失マウスを作製したが、毛包形態や幹細胞の遺伝子発現に顕著な異常は現れなかった。

研究成果の概要(英文)：Mouse hair follicle bulge stem cells acquire the stemness during development, but its mechanisms remain largely unknown. We test the significance of tendon-like function of bulge stem cells in their stemness acquisition. We performed the in-depth transcriptome analysis of adult hair follicle bulge stem cells and demonstrated that bulge stem cells highly express many tendon-related genes including Scx, an essential gene for tendon morphogenesis. The expression of Scx is induced in the bulge stem cells when they start expressing stem cell marker genes. But the deletion of Scx did not show any significant phenotype in the bulge stem cells.

研究分野：皮膚科学

キーワード：毛包幹細胞 腱 遺伝子発現プロファイル

### 1. 研究開始当初の背景

毛包は生涯に渡り再生を繰り返す器官であり、その再生を支えるのが多分化能と自己複製能を合わせ持つ毛包幹細胞である。毛包幹細胞は、毛包発生過程で幹細胞性を獲得し、バルジと呼ばれる毛包の膨らんだ部分に常在し、休眠状態を保つ。毛包幹細胞については多くの研究が行われてきたが、毛包幹細胞の特性がどのような logic で決定されるのかは明確にされていない。

最近、研究代表者らは、毛包バルジ幹細胞には娘細胞を産生し毛を再生する役割以外にも、立毛現象に必須である立毛筋の発生と毛包への接続を制御する役割があることを報告した (Fujiwara et al., *Cell* 2011)。また、我々は、バルジ幹細胞が、腱や靭帯に特徴的な遺伝子を複数発現していることも同論文で報告した。バルジ周囲には毛包と立毛筋とをつなぐ腱様構造が見られるが、腱細胞は見つかっていない。よって、毛包幹細胞が機能的にも遺伝子発現的にも腱細胞の性質を併せ持つことにより、立毛筋の毛包への接続を仲介していると推測できる。このような研究成果を元に、バルジ幹細胞の立毛筋に対する役割が、バルジ幹細胞の特性決定、毛包幹細胞プールの heterogeneity 及びコンパートメント形成にも cell-autonomously に関与しているとする仮説を着想した。

### 2. 研究の目的

(1) バルジ幹細胞と腱細胞との遺伝子発現の類似性を明らかにする。

(2) 皮膚発生における腱細胞性遺伝子群の発現パターンとバルジ幹細胞の特徴化との相関関係。

(3) 腱発生の master regulator である転写因子 *Scleraxis* (*Scx*) がバルジ幹細胞で特異的に発現していることを研究代表者らは同定している (未発表)。そこで、*Scx* 発現細胞が毛包幹細胞であることを *Scx*-CreER マウスを用いた lineage tracing により明らかにする。

(4) *Scx* KO マウスを用い、*Scx* 及びその標的遺伝子の毛包幹細胞特性決定における役割を明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究では、「毛包バルジ幹細胞の特性決定における腱様機能獲得の意義」を解明するため、初年度に、毛包バルジ幹細胞と腱細胞との類似性を遺伝子発現プロファイリングにより明らかにする。また、皮膚発生における腱細胞性遺伝子群の発現パターンとバルジ幹細胞の特徴化との相関関係も解析する。次年度には、既にバルジ幹細胞で特異的に発現することを同定している腱発身に重要な転写因子 *Scleraxis* (*Scx*) の遺伝子改変マウスを用い、*Scx* の欠失や過剰発現が、毛包バルジ幹細胞の幹細胞機能にどのよう

に影響するのかを解析する。

### 4. 研究成果

(1) バルジ幹細胞 (CD34 陽性) と腱細胞との遺伝子発現の類似性を包括的に明らかにするため、バルジ表皮幹細胞とその他の性質の異なる毛包表皮幹細胞を FACS 分離し、それら細胞群の遺伝子発現プロファイル RNA-seq 法により比較した。Gene Ontology 解析の結果、バルジ幹細胞において、Muscle development, Skeletal development という筋肉-組織接続部に特徴的な遺伝子の発現が強く誘導されていることが明らかとなった (図1)。これは、バルジ幹細胞が表皮幹細胞としての性質とともに、筋肉を組織に結合させるための遺伝子の発現を強く誘導していることを示すものである。

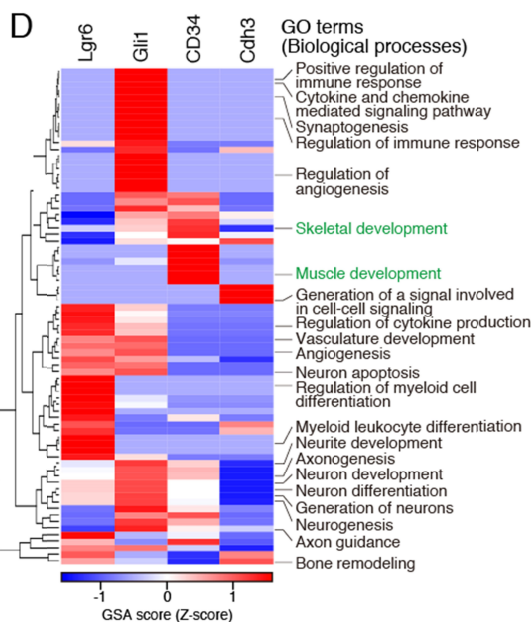


図1. 毛包バルジ幹細胞と他の表皮細胞との Gene Ontology 解析の結果

(2) 腱様機能に関わる遺伝子の発現が、器官形成のどの時期に誘導されるのかを、腱の主要な転写因子として知られる *Scx* の遺伝子発現を指標に解析した。*Scx* の発現は、発生期に毛包バルジが形成され、間充織側に立毛筋前駆細胞が誘導されるのと同様タイミングで、バルジ幹細胞においてのみ誘導された。また、バルジ幹細胞における *Scx* の発現は、毛周期に関わらず、常にバルジ幹細胞でのみ高発現していることが示された。これらの結果は、1) 毛包バルジ幹細胞は、バルジに誘導されると同時に、腱細胞に特徴的な遺伝子発現を獲得し、毛周期に関わらず、生涯に渡ってその性質を維持すること、2) バルジ幹細胞が幹細胞ニッチから離れると、腱に類似した遺伝子の発現が減弱することを示唆している。

(3) 毛包バルジ幹細胞における腱細胞を特徴付ける遺伝子の発現がバルジ幹細胞の特性決

定に関わるかどうかを、バルジで特異的に発現する腱組織の master regulator 転写因子 Scleraxis 欠失マウスを用いて検証した。表皮特異的に Scleraxis を欠損するマウスを作製し、それが毛包の組織形態とバルジ幹細胞のグローバルな遺伝子発現状態に及ぼす影響を解析した。しかし、現在のところ、毛包の形態や幹細胞の遺伝子発現に顕著な異常を見出すには至っていない。

本研究を通して、バルジ表皮幹細胞が毛包発生期に筋肉-組織接続部に特徴的な遺伝子発現機構を獲得することで、表皮細胞と腱様細胞とのハイブリッド状態を維持していることが明らかとなった。今後は、本研究で同定された Scleraxis 以外の腱組織特異的な遺伝子の機能解析を進めることで、「幹細胞の器官内における multi-functionality が幹細胞を特徴付ける」という概念の創出を目指す。

#### 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 13 件)

1. **Fujiwara H.**  
ECM heterogeneity mediates the reciprocal interaction between different cell types in the hair follicle  
BMB 2015: Annual Meeting of Biochemistry and Molecular Biology Society, Kobe, Japan (1-3 December, 2015)
2. **Fujiwara H.**  
Microenvironmental regulation of hair follicle morphogenesis and regeneration  
Seminar “Cell and tissue communications in organogenesis: cutting edge approaches”  
Foundation Des Treilles. Tourtour, France (21-26 September, 2015)
3. **Fujiwara H.**  
The role of extracellular matrix heterogeneity in integrating cells into organs.  
67<sup>th</sup> Annual Meeting for the Japan Society for Cell Biology (30 June-2 July, 2015)
4. **Fujiwara H.**  
The role of extracellular matrix heterogeneity in regulating hair follicle stem cell-niche interactions.  
48<sup>th</sup> Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, Tsukuba, Japan (2-5 June, 2015)
5. **Fujiwara H.**  
The epidermal stem cell niche instructs the creation and positioning of

mesenchymal features.

13<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium, Tokyo, Japan (29-30 May, 2015)

6. **Fujiwara H.**  
Crosstalk between hair follicle stem cells and their niche.  
The 120<sup>th</sup> Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists and the 92<sup>nd</sup> Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, Kobe, Japan (21-23 March, 2015)
7. **Fujiwara H.**  
The role of extracellular matrix heterogeneity in regulating hair follicle stem cell-niche interactions  
International symposium on neurovascular wiring, Kyoto, Japan (28-29 January, 2015)
8. **Fujiwara H.**  
表皮幹細胞が間充細胞に静的・動的環境を提供する仕組み  
37<sup>th</sup> Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan 日本分子生物学会, Yokohama, Japan (25-27 November, 2014)
9. **Fujiwara H.**  
Crosstalk between hair follicle stem cells and their niche.  
JSPS China-Japan Scientific Cooperation Program, China-Japan-Korea Joint Symposium on Developmental Biology (20-22 October, 2014)
10. **Fujiwara H.**  
毛包幹細胞-ニッチ間のクロストークを支える分子基盤 (Molecular basis of the crosstalk between hair follicle stem cells and their niche)  
第 14 回日本抗加齢医学会総会 (Japanese Society of Anti-Aging Medicine)、大阪 (8<sup>th</sup> June, 2014)
11. **Fujiwara H.**  
Bidirectional interactions between epidermal stem cells and their niche  
47<sup>th</sup> Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, Nagoya, Japan (28-30 May, 2014)
12. **Fujiwara H.**  
Crosstalk between hair follicle stem cells and their niche  
8<sup>th</sup> World Congress for Hair Research, Jeju, Korea (14-17 May, 2014)

[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  
細胞外環境研究チーム  
<http://www.cdb.riken.jp/research/laboratory/fujiwara.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

藤原 裕展 (FUJIWARA, Hironobu)  
国立研究開発法人理化学研究所・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：20615744

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：