

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860258

研究課題名(和文)毛包幹細胞の分裂制御におけるヘミデスモソーム構成因子の役割とその仕組みの解明

研究課題名(英文)Elucidation of role and function for cell polarity in Hair follicle stem cells through hemidesmosomal components

研究代表者

松村 寛行 (Matsumura, Hiroyuki)

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) 3,000,000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、ほとんど明らかにされていない。17型コラーゲンは、基底膜ヘミデスモソーム構成成分であり、基底膜へと係留する役割をもつ。我々は、17型コラーゲンが、毛包の基底膜にも発現しており、毛包幹細胞の維持に必須であること、また、“毛包の老化メカニズム”の中心的な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究では、ヘミデスモソーム構成成分である17型コラーゲンやインテグリンA6が、どのようにして毛包幹細胞の細胞極性制御に関わり、その運命にかかわるのか、解析している。

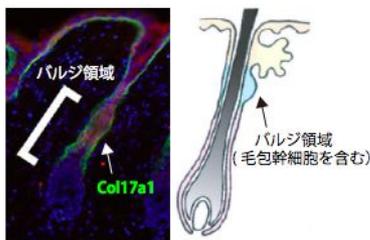
研究成果の概要(英文)：Cell polarity plays important functional roles in differentiation and proliferation of mammalian stem cells. However, the function and regulation of cell polarity in hair follicle stem cells (HFSCs) are unclear. COL17A1 is one of the hemidesmosomal transmembrane proteins that play a critical role in maintaining the linkage between the intracellular and the extracellular structural elements involved in epidermal integrity. Previously, we showed that COL17A1 is essential for maintenance of hair follicle stem cells (Cell Stem Cell 2011), that the maintenance of COL17A1 in HFSCs orchestrates the stem cell centric aging program of the epithelial mini-organ (Matsumura et al. Science 2016). In this study, we are investigating how COL17A1 and ITGA6 regulates the fate of hair follicle stem cells by focusing on cell polarity.

研究分野：医歯薬学

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ことにより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、マウスの表皮でも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、均等分裂のみを行なっている可能性も示唆されるようになった(Greco 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も証明されている(Snippert et al., Cell 2010)。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



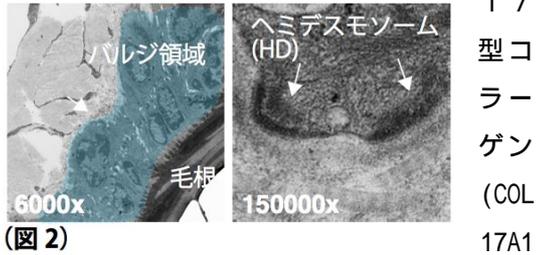
(図1)

(図1) 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りやすく、幹細胞の運命制御、自己複製との関わり

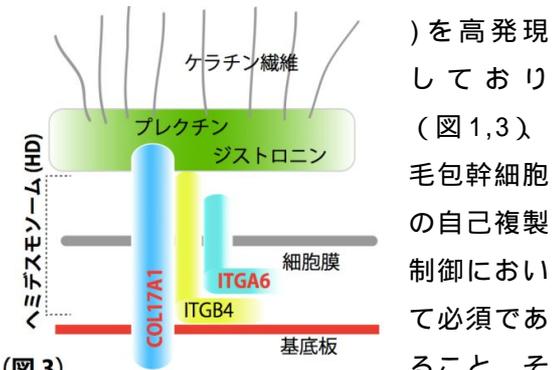
可能性を考えるに至った。毛包幹細胞は毛包なかほどのバルジ領域に局在し

は不明である。

申請者らは、マウス毛包幹細胞が、ヘミデスマソーム(HD)と呼ばれる細胞-マトリックス間接着構造を持ち(図2,3)構成分子として

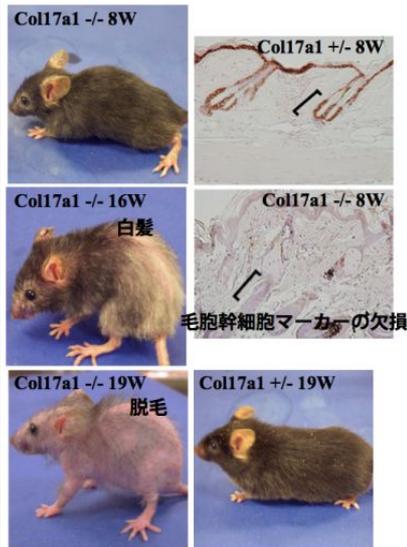


(図2)



(図3)

を高発現しており(図1,3)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初めて明らかにしている。(図4)(Tanimura et al., Cell Stem Cell 2011)。



(図4)

ヘミデスマ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、ヘミデスマ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りやすくはない。そこで、まず、成体マウスの毛包幹細胞において分裂軸および、分裂極性を解析できる実験系を構築する。次に、ヘミデスマソーム構成因子をコードする Col17a1 遺伝子、Itga6 遺伝子、これらの遺伝子の欠損により

分裂極性の破綻の有無、および、その毛包表現型を解析することを計画した。

<引用文献>

- (1) Williams SE, Beronja S, Pasolli HA, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote Notch-dependent epidermal differentiation. *Nature*. 2011 Feb 17;470(7334):353-8.
- (2) Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yoshida H, Osawa M, Moriyama M, Jackson IJ, Barrandon Y, Miyachi Y, Nishikawa S. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature*. 2002 Apr 25;416(6883):854-60.
- (3) Greco V, Chen T, Rendl M, Schober M, Pasolli HA, Stokes N, Dela Cruz-Racelis J, Fuchs E. A two-step mechanism for stem cell activation during hair regeneration. *Cell Stem Cell* 4(2):155-69 (2009).
- (4) Snippert HJ, van der Flier LG, Sato T, van Es JH, van den Born M, Kroon-Veenboer C, Barker N, Klein AM, van Rheenen J, Simons BD, Clevers H. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell*. 2010 Oct 1;143(1):134-44.
- (5) Tanimura S, Tadokoro Y, Inomata K, Binh NT, Nishie W, Yamazaki S, Nakauchi H, Tanaka Y, McMillan JR, Sawamura D, Yancey K, Shimizu H, Nishimura EK. Hair follicle stem cells provide a functional niche for melanocyte stem cells. *Cell Stem Cell*. 2011 Feb 4;8(2):177-87.

2 . 研究の目的

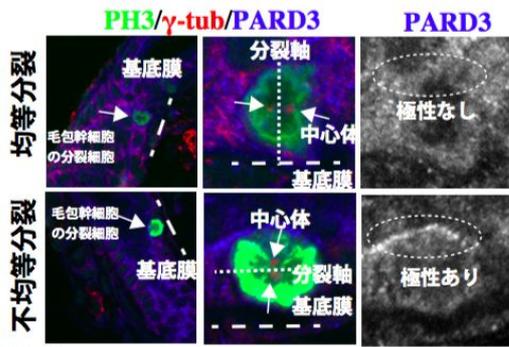
本研究では、まず、成体の毛包幹細胞での分裂軸および、分裂極性制御の実態を明らかにする。次に、毛包幹細胞特異的に成体において、Col17a1 および Itga6 遺伝子の欠損を特異的に誘導できるマウスを作出し、それぞれの欠損によるヘミデスモソームの有無、分裂軸および、分裂極性制御の異常の有無、その異常により誘発されるものがいかなるものかを明らかにする。さらに、毛包幹細胞特異的に Col17a1, Itga6 遺伝子の両方の欠損を誘導できる成体マウスを作出し、ヘミデスモソームが完全に消失するか、またその際の幹細胞の分裂軸および、分裂極性制御の異常の有無、その異常により誘発されるものがいかなるものかを明らかにする。これにより、ヘミデスモソームがどのように毛包幹細胞の自己複製を制御しているのか明らかにする。

3 . 研究の方法

細胞極性による毛包幹細胞の維持機構の解明のために、まず、効率的な分裂軸および、分裂極性の検出系を確立し、毛包幹細胞における分裂極性の有無とそ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 17 型コラーゲン (Col17a1)、インテグリン 6 (Itga6) を毛包幹細胞特異的に欠損するマウス、及び、その両方を欠損するマウスを作製し、これらが、毛包幹細胞の分裂軸および、分裂極性をどのように制御しているのか解析する計画である。

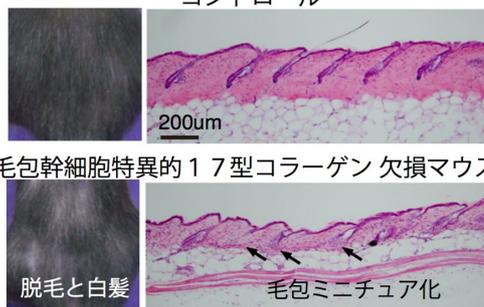
4 . 研究成果

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1)。



(図 1)

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、最終的に毛包ミニチュア化や脱毛に至った(図2)。また、インテ



(図 2)

グリンa6を毛包幹細胞特異的なケラチン15プロモーター化で、薬剤依存的に欠損するマウス(*Itga6 flox/flox, K15crePR*)を作製した。このマウスも、毛包幹細胞特異的に17型コラーゲンを欠損するマウスと同様の表現系が観察された。現在これらマウスを用いて、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 3 件)

Hair follicle aging is driven by transepidermal stem cell elimination via COL17A1 proteolysis.

Matsumura H, Mohri Y, Binh N T,

Morinaga H, Fukuda M, Ito M, Kurata S, Hoeijmakers J, Nishimura E K

Science 351 6273 aad4395 (2016)

査読有

Calreticulin is required for development of the cumulus oocyte complex and female fertility.

Tokuhiro K, Satouh Y, Nozawa K, Isotani A, Fujihara Y, Hirashima Y, Matsumura H, Takumi K, Miyano T, Okabe M, Benham AM, Ikawa M

Scientific Reports 5:14254

(2015) 査読有

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

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

Journal of neuroscience 32 (30),

10413-10422 (2012) 査読有

[学会発表](計 11 件)

メラノーマの発生と色素幹細胞の運命制御

西村 栄美、毛利 泰彰、Sally, Eshiba, Leu, Nan, 松村 寛行

第74回日本癌学会学術総会 名古屋市国際会議場(愛知県・名古屋市,

2015,10.8-10.)

高田亜希, 松村寛行, 岡崎 睦, 西村 栄美. 老化・発癌ストレス下における毛包幹細胞のクローン運命解析 第24回日本形成外科学会基礎学術集会 岩手県

民会館 (岩手県・盛岡市,
2015.10.08-09.)

高田亜希, 松村寛行, 森永浩伸, 岡崎
睦, 西村栄美. Confetti マウスを用い
た色素班発生過程の解析. 第23回日本
形成外科学会基礎学術集会 キッセイ
文化ホール(長野県・松本市
2014.10.09.)

西村栄美, 松村寛行, 毛利泰彰, Nan Liu,
Eshiba Sally, Nguyen Thanh Binh
皮膚幹細胞と毛髪再生: 黒髪を再生でき
るか? 第35回日本炎症再生医
学会 万国津梁館 (沖縄県・那覇市,
2014.7.2.)

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 Fukuoka
University (Fukuoka prefecture
Fukuoka city, 2014.5.30-31.)

松村寛行

毛包のエイジングと17型コラーゲ
ンの役割
平成26年度 難治疾患研究所研究発表
会 東京医科歯科大学 (東京都・千代
田区 2014.3.10.)

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 University (Kyoto prefecture
Kyoto city, 2013, 6.27-28)

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. Tokyo University (Tokyo
metropolitan Government・Bunkyo-ku
2013.5.17-18)

松村寛行

加齢やゲノムストレスによる毛包幹細
胞の運命制御機構の解明
平成25年度 難治疾患研究所研究発表
会 東京医科歯科大学 (東京都・千代
田区 2013.2.24.)

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.

Neuroscience 2012, Annual Meeting of
Society for Neuroscience (New
Orleans, USA, 2012.10.15.)

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. NEUROSCIENCE2012, 第35回日本
神経科学会 名古屋国際会議場(愛知
県・名古屋市,2012.9.18-21)

〔図書〕(計 1 件)

1. 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〕

出願状況(計 1 件)

名称:脱毛および白毛化を抑制もしくは改善
するための組成物ならびにその使用
発明者:西村 栄美、松村 寛行
権利者:同上
種類:特許
番号:特願 2016-003424
出願年月日:2016/01/12
国内外の別:国内
取得状況(計 1 件)
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: 70581700

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし