

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：友近 真世

専攻分野：形成外科学

指導教授：梶川 明義

主論文の題目：

Possible Cellular Communication with Human Follicle
Dermal Papilla Cells via Secretions from Human Hair
Follicle Keratinocytes

(ヒト毛包ケラチノサイトからの分泌物を介したヒト毛包
真皮乳頭細胞との細胞間情報伝達の可能性)

共著者：

Rena Sumie, Ryotaro Miyano, Yasushi Mochizuki, Hajime
Inoue, Akiyoshi Kajikawa

緒言

脱毛症の発症には毛周期が大きく関与している。我々は、毛根組織を構成する細胞間の情報伝達を明らかにするため、ヒト毛包ケラチノサイト (human hair follicle-derived keratinocytes ; HFK) とヒト毛包皮膚乳頭細胞 (human follicle dermal papilla cells ; HFDPC) をいくつかの条件で培養し、HFK の分泌物が HFDPC の毛周期関連遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。

方法・対象

Promo Cell 社より購入した HFDPC と、手術時に余剰となった腋窩部の毛包から得た HFK をそれぞれ単独でコンフルエントに達するまで培

養した。それらを用いて、HFK 培養上清を用いた HFDPC の培養、HFDPC と HFK の共培養、エクソソームを除去した HFK 培養上清での HFDPC の培養を行った。それぞれの条件で培養した HFDPC から RNA を抽出し、線維芽細胞成長因子(Fibroblast Growth Factor 2 ;FGF2)、血管内皮細胞増殖因子(Vascular Endothelial Growth Factor ;VEGF)、骨形成タンパク質 2 (Bone Morphogenetic Protein-2 ;BMP2)、Wnt 遺伝子 5A (Wnt gene family member 5A ;WNT5A)、 β -カテニン(Catenin Beta 1;CTNNB1)の遺伝子発現を定量した (いずれも n=6)。

なお本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会 (臨床試験部会) における承認 (承認番号第 1548 号) の下実施された。統計は JMP 統計解析ソフトウェアを用い、各遺伝子発現について対応のない t-検定を行い $p < 0.05$ を有意とした。

結果

HFK 培養上清の添加により培養した HFDPC では、WNT5A 遺伝子発現は 3.5 倍 ($p < 0.05$) に、FGF2 遺伝子は 3.8 倍 ($p < 0.05$)、VEGF 遺伝子は 2.2 倍 ($p < 0.05$) に有意に増強された。BMP2、CTNNB1 遺伝子では顕著な変化は観察されなかった。

HFK と HFDPC の共培養では、培養上清を添加した結果と異なり、WNT5A、BMP2 遺伝子発現増強はそれぞれ 1.7 倍 ($p < 0.05$)、1.5 倍 ($p < 0.05$) と弱まり、一方、VEGF 遺伝子は 3.0 倍にさらに増強された ($p < 0.05$)。BMP2、CTNNB1 遺伝子では顕著な変化は観察されなかった。

エクソソームを除去した HFK 培養上清で培養した HFDPC では、HFK 上清での培養と比較して BMP2 遺伝子は 3.1 倍に、VEGF 遺伝子は 2.2 倍に発現が有意に増加した (ともに $p < 0.05$)。また、WNT5A 遺伝子は 29.4% ($p < 0.05$)、FGF2 遺伝子は 20.9% ($p < 0.05$) へ減弱し、CTNNB1 遺伝子では顕著な発現変動は観察されなかった。

考察

毛髪は、ヘアサイクルと呼ばれる発毛と脱毛のサイクルを繰り返しており、これが乱れると脱毛症が起こるとされている。毛根組織を構成する細胞間の情報伝達をコントロールすることで、毛髪の成長を活発にする anagen phase を延長し、毛包の萎縮を引き起こす catagen phase と telogen phase を短縮できれば、脱毛症の進行を抑制できる可能性があるが、ヘアサイクルの調節機構については未だに不明な点も多く、さらなる研究が必要である。今回我々は、HFK の分泌物が HFDPC のヘアサイクル関連遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。実験の結果、HFK 培養上清を用いた場合と HFK と HFDPC の共培養を行った場合との比較で、HFDPC ヘアサイクル関連遺伝子の発現に変化が観察された。具体的には、WNT5A, FGF2 遺伝子では HFK 培養上清添加のほうが共培養に比べてより強い遺伝子発現増強が見られ、一方 VEGF 遺伝子では、共培養のほうが遺伝子発現がより増強していた。以上の結果から WNT5A, FGF2 遺伝子を発現増強する情報伝達物質は、培養上清中で安定しており、吸着性、不溶性などによりインサートカップを十分に透過できない因子である可能性を、また VEGF 遺伝子を発現増強する情報伝達物質は、培養上清中で不安定であり、インサートカップを十分に透過する可溶性の因子である可能性を予想した。前者の候補として今回エクソソームを検討した。後者の候補としては培養 HFK へのインドメタシン添加により除去されるアラキドン酸代謝物を検討中であるが、これまでのところ HFDPC ヘアサイクル関連遺伝子への顕著な影響は観察されていない。近年、細胞が放出するのは様々な可溶性因子だけでなく、細胞間シグナル伝達のためにナノ粒子サイズの小胞型エクソソームを放出することが報告され注目されている。そこで我々は、エクソソームを除去した HFK 培養上清を調製し、HFDPC ヘアサイクル関連遺伝子への影響を観察した。その結果、エクソソームの除去により BMP2、VEGF 遺伝子の発現が増加し、また、WNT5A、FGF 2 遺伝子が顕著に抑制された。これらの結果から、エクソソ

ームには BMP2、VEGF 遺伝子の発現を抑制し、WNT5A、FGF2 遺伝子の発現を増強する作用があると示された。エクソソームは老化にともなって分泌量が増えるという報告もあり、毛包を構成するケラチノサイトの病的な老化により分泌されるエクソソームが細胞間情報伝達因子として毛乳頭細胞の遺伝子発現を変化させ、脱毛症状を呈する可能性もある。しかしながら、生体レベルにおいて、エクソソームの存在が発毛作用と脱毛作用のどちらに促進的であるか、今後さらなる検討が必要である。

結論

本研究により培養 HFDPc のヘアサイクル関連遺伝子発現に影響を与える HFk 由来の複数の情報伝達因子の存在が示された。そのうちの一つはエクソソームである可能性が考えられ、この因子は脱毛を促進する遺伝子である FGF2 の発現を増強し、発毛を促進する遺伝子である BMP2、VEGF の発現を抑制した。今後、これらの情報伝達因子を同定し、動物個体でその機能を実証できれば、脱毛症の新しい治療法開発につながる可能性がある。