



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Pigmentation of regenerated hairs after wounding.(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	百合口, 稔
Report No.(Doctoral Degree)	博士(再生医科学) 甲第1030号
Issue Date	2016-11-16
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/55736

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	百合口 稔（愛知県）
学位の種類	博士（再生医科学）
学位授与番号	甲第 1030 号
学位授与日付	平成 28 年 11 月 16 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Pigmentation of regenerated hairs after wounding
審査委員	（主査）教授 中川 敏幸 （副査）教授 武内 康雄 教授 清島 真理子

論文内容の要旨

マウスでは創傷治癒に伴って毛包が再生することが知られているが、創傷治癒後の再生毛は色素細胞のない白毛であるとされていた。我々は特定の毛包周期（成長期）に創傷することで色素を持つ毛が再生すること、すなわち毛包の成長期に受けた創傷の治癒過程では毛包幹細胞と色素細胞幹細胞が協調的に働くことで色素を持つ黒毛が再生することを見出した。本研究では色素細胞より供給された色素を持つ毛が創傷治癒後に再生するために必要な因子の解明を目指した。その結果、毛包再生との関連が報告されている Wnt7a シグナルが生後 3 5 日目の成長期に皮膚全体で活性化されていること、さらに Wnt シグナルを活性化する LiCl 塗布により創傷治癒後に色素を持つ再生毛が増加することを確かめた。これらの結果から、色素を保持した毛の再生には色素細胞幹細胞が存在し、しかもそれらが Wnt シグナルにより活性化されることが重要であることが示された。

【材料と方法】

マウス背面の皮膚を採取して色素細胞幹細胞の動態を組織学的に調べた。さらに、およそ 2 ヶ月後に創傷治癒した部分の再生毛の有無、色素細胞の再生を調べた。具体的には以下の実験を行った。

創傷時の皮膚に存在する色素細胞幹細胞を調べるために、生後 21 日 (P21), P35, P49（それぞれの毛周期は各休止期, 成長期, 休止期に相当）の各毛周期で切り取った背面の皮膚を用いて色素細胞幹細胞の存在部位と数を観察した。そのために、色素細胞幹細胞特異的に *LacZ* 遺伝子を発現する *DCT-LacZ* transgenic (Tg) マウスを利用した。

およそ 2 ヶ月を経て創傷治癒後の再生毛の色素の有無、その割合を調べた。P21, P35, P49 に背面皮膚を 1 ~ 2.25cm² 程切り取ることで毛周期別の創傷とした。

各毛包周期と Wnt7a の発現パターンを調べるために PCR 及び免疫染色を用いて P21, P35, P49 の背面表皮を解析した。創傷治癒後に LiCl を使い Wnt7 を過剰発現させ、色素を持つ再生毛形成への効果を調べた。

色素細胞幹細胞と色素を持つ再生毛との関係を調べるために、表皮に多量の色素細胞幹細胞が存在する *hk14-Kit1-Tg* マウス、真皮に多量の色素細胞幹細胞が存在する *hk14-ET3-Tg* マウスを用いて同様に創傷治癒後の再生毛が色素を持つ割合を調べた。

【結果】

P21, P49（毛周期は休止期）の創傷からの再生毛は色素細胞を欠いた白毛であったが、P35（毛周期

は成長期)では黒色の色素顆粒を保持した再生毛が優位に見られた。このことから、再生毛の色素の有無は、創傷時皮膚の毛周期に依存することが示された。

P21 では P35 に比べ毛包外の色素細胞幹細胞数が少なかったことから、P21 での創傷治癒後の再生毛が色素を持たないのは毛包再生の開始時点で色素細胞幹細胞の数が少ないことが原因と予想された。P49 では P35 と同数の毛包外の色素細胞幹細胞が存在したので、再生中の毛包に侵入する活性に差があることが示唆された。

白毛が再生する P21、P49 では Wnt7a の表皮における発現が P35 に比べ有意に低く、また P49 の創傷からの治癒過程で LiCl 投与により Wnt シグナルを活性化させると色素を持つ再生毛が増加したことから、創傷治癒後の再生毛の発色は Wnt7a による色素細胞幹細胞の活性化（再生中の毛包への侵入）が重要であることが示唆された。

色素細胞分化増殖因子 Kit1 の強制発現により、活性の高い色素細胞幹細胞が表皮に多く存在する *hk14-Kit1-Tg* マウスでは再生毛は P21、P35 のどの時点で創傷しても色素を保持していた。活性の高い色素細胞が毛包形成に関与しない真皮にのみ存在する *hk14-ET3-Tg* マウスでは P35 の創傷でも再生毛は色素を欠損していた。これらのことから、創傷治癒後の再生毛の色素の有無には活性化された色素細胞幹細胞が表皮に存在するかどうか重要であることがわかった。

【考察】

本研究により創傷治癒後の色素を持つ毛の再生には、表皮に発現する Wnt7a による色素細胞幹細胞の活性化が重要であることを明らかにした。Wnt7a は紫外線などによる色素細胞の活性化に重要なことが最近報告されているが、今回の研究から、毛包幹細胞と色素細胞幹細胞の協調的な作用の結果生じる創傷治癒後の毛の再生においても重要な役割を果たすことが示された。今後は Wnt7a がどのような毛包幹細胞と毛包間色素細胞幹細胞の細胞間相互作用を誘導することで色素を持つ再生毛の形成を可能にしているかを解明することが課題である。

今回の研究においては、Wnt7a による色素細胞幹細胞の活性化を中心に解析を行ったが、毛の起源である毛包幹細胞の活性化（再生毛の効率）についてもその促進効果を確認したので、今後の研究課題にしたいと考えている。

【結論】

本研究では、毛周期や Wnt シグナルに注目して色素細胞幹細胞を活性化することにより色素を保持した再生毛を誘導することに成功した。この成果は新しい黒毛再生モデルとして白髪の治療薬の発見や治療法の開発に貢献するものである。

論文審査の結果の要旨

申請者 百合口 稔は、創傷治癒後の再生毛における色素細胞幹細胞の局在と役割を検討した。特定の毛包周期（成長期）に創傷した再生毛では毛包幹細胞と色素細胞幹細胞が協調的に働くこと、その作用は Wnt シグナルによって活性化された色素細胞幹細胞が重要であることを明らかにした。これらの知見は再生医学の発展に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Minoru Yuriguchi, Hitomi Aoki, Nobuhiko Taguchi, Takahiro Kunisada:

Pigmentation of regenerated hairs after wounding.

Journal of Dermatological Science 84, 80-87 (2016)