

生体外で高効率に長毛を生み出す 毛包オルガノイドの作製技術を開発

—白髪や脱毛症の治療薬開発、毛髪再生医療に期待—

本研究のポイント

- ・生体外で高効率（～100%）に毛幹（※1）を生み出せる毛包オルガノイド（※2）の作製に成功した。
- ・毛幹の長さは3mmに達し、ピンセットで操作できる長さとなった。
- ・毛幹の着色に用いられるメラノソーム（※3）の動きを可視化でき、毛の色を濃くする薬剤の効果を評価できた。
- ・毛包オルガノイドをマウスに移植すると毛包が生着し、毛の生え代わりを繰り返した。

【研究概要】

神奈川県立産業技術総合研究所（KISTEC）／横浜国立大学の景山達斗研究員／助教、福田淳二プロジェクトリーダー／教授らの研究グループは、生体外で高効率（～100%）に長毛を生み出す毛包オルガノイドを作製する方法を開発しました。ヘアフォロクロイドと名付けられた新規の毛包オルガノイドは、上皮系細胞と間葉系細胞の自己組織化による空間配置を制御することで作製され、産生された毛幹の長さは3mmまで達しました。また、毛球部（※4）におけるメラノソームの動きの可視化、毛の色を濃くする薬剤の効果の評価、移植による毛髪再生ができることを確認しました。この毛包オルガノイドは、生体现象理解のための培養モデルおよび白髪や脱毛症の治療薬のスクリーニングツール、そして毛髪再生医療のための移植組織など、様々な用途への応用が期待できます。

この研究成果は、国際科学雑誌「Science Advances」に米国時間2022年10月21日14:00（日本時間2022年10月22日3:00）に掲載されました。

【研究成果】

私たちの体を構成する臓器・組織は、異なる種類の細胞からなる非常に複雑な構造を持っており、これらは発生過程において、上皮系細胞（※5）と間葉系細胞（※6）の相互作用によって形成されます。しかし、上皮系細胞と間葉系細胞を生体から分離して試験管内で培養すると、目的細胞への分化に必要な相互作用が得られず、生体内とは異なる動態を示し、臓器・組織への形態形成が生じません。そのため、上皮系細胞と間葉系細胞が生体内と同様に自己組織化するような体外培養手法の研究が進められてきました。毛包は、この2種類の細胞の相互作用を理解するための典型的なモデルとして用いられています。海外の研究グループの先行研究において、上皮系細胞と間葉系細胞をオルガノイドにして

毛包の前駆組織を誘導する研究が進められてきましたが、成熟した毛包を形成することはできていませんでした。今回、私たちの研究グループは、マウスの上皮系細胞と間葉系細胞が培養初期に形成する凝集体の空間配置パターンを制御することで高効率に成熟した毛包を再生することに成功しました。すなわち、凝集体の空間配置パターンが異種排他的なダンベル構造を形成する時には、毛包はほとんど再生しないのに対し、異種間の接着性が強いコアシェル構造を形成するとき、上皮-間葉相互作用が十分に作用し、毛包がほぼ100%の効率で再生することを見出しました。形成した毛包オルガノイド（以降、ヘアフォリクロイド）には、生体の毛包に含まれる主要な細胞（毛乳頭細胞や毛包上皮幹細胞、色素細胞など）の存在が観察され、再生した毛幹は組織特有のキューティクル構造（※7）を有していました。

このヘアフォリクロイドの毛球部ではメラノソームの輸送現象を観察することができ、薬剤に応答して毛幹の色が濃くなる様子が見られました。また、ヘアフォリクロイドを免疫不全マウスに移植したところ、毛包がホストの皮膚に生着し、1年間毛周期を繰り返しました。この結果は、ヘアフォリクロイドが、白髪の治療薬を探索するためのスクリーニングツール、および、毛髪再生医療のための移植体として利用できることを示唆しています。

以上をまとめると、本研究において、毛包を生体外で再生するためのメカニズムの一部が明らかとなり、ヘアフォリクロイドが生命現象理解や創薬、再生医療など様々な用途に応用できる可能性が示されました。

【実験の詳細】

マウス胎児皮膚から採取した上皮系細胞と間葉系細胞を、低濃度のマトリゲル（※8）を添加した培地に懸濁し、オルガノイド培養を行いました。低濃度のマトリゲルの添加により、培養2日目の細胞の凝集体の空間配置パターンがダンベル構造からコアシェル構造に変わりました（図1）。培養4日目のヘアフォリクロイドの組織切片を解析したところ、コアシェルの界面近傍で上皮-間葉相互作用により生じるWntシグナル（※9）の活性化がみられ、Wnt10b陽性細胞を含む毛芽が形成されました。さらに培養6-10日目には、毛幹がヘアフォリクロイドから伸長する様子が観察されました（図2左）。ヘアフォリクロイドをマトリゲルに包埋し2-3日間培養した場合には、毛幹の長さは約3mmまで伸長しました（図2右）。

このオルガノイドの形成が、マトリゲルのどのような性質に依存したものを検証するため、マトリゲルの主要成分やそれ以外の生体材料を培地に添加する実験を行いました。その結果、マトリゲルにほとんど含まれない、I型コラーゲンでもコアシェル構造の形成とその後の毛包再生が観察されたことから、ゲル成分が直接的にオルガノイド形成を促すのではなく、細胞がコアシェル構造をとることが重要であることがわかりました。この空間配置パターンの変化は、差次接着性仮説（Differential Adhesion Hypothesis）（※10）で説明することができ、マトリゲルやコラーゲンなどの細胞接着性のマトリクスの添加により、異種細胞間の接着性が高まったことで、異種排他的なダンベル構造ではなく、コアシ

セルの物理的構造（上皮：内核、間葉：外殻）が安定化したと考えられます。

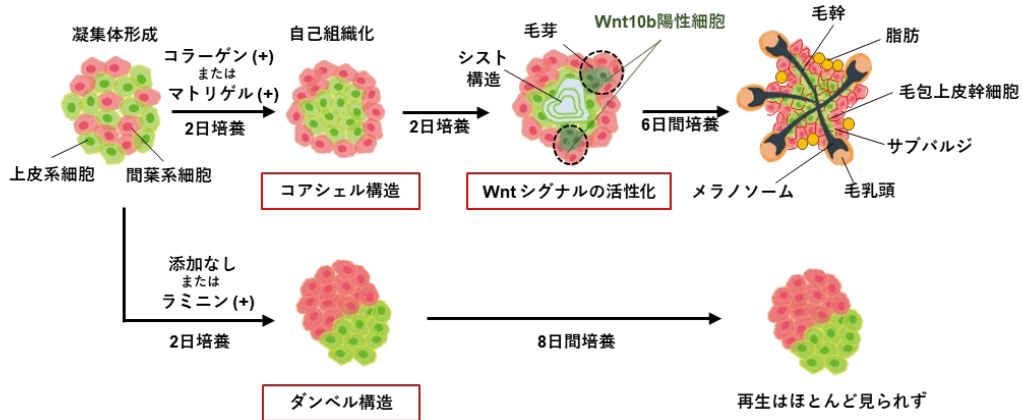


図1 凝集体の空間配置パターンと毛包再生の関係

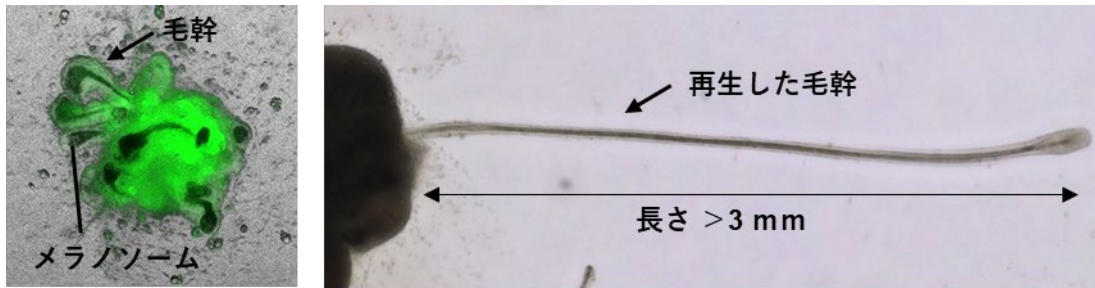


図2 培養10日目のヘアフォリクロイド（左）と包埋培養23日目に形成した長毛（右）

髪色変化に関連する実験では、培養2日目のヘアフォリクロイドの培養液にメラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) (※11) を添加し、10日間培養を行った後、色素合成に関わる遺伝子の発現や再生した毛幹の毛髪メラニン色素の量を評価しました (図3)。ヘアフォリクロイドは α -MSH の刺激に応答して、色素量を優位に増加させました。

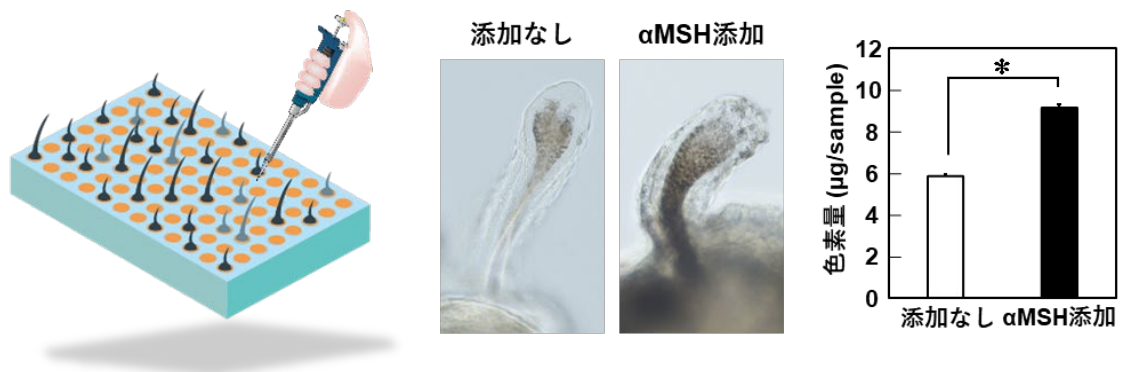


図3 α -MSH 添加によるヘアフォリクロイドの毛幹の色の変化

毛髪再生に関連する実験では、培養6日目のヘアフォリクロイドをヌードマウスに1つずつ移植しました。移植3週後に移植部から毛幹が伸長する様子が観察され、その後、同じ場所から毛髪が生え変わる様子が確認されました (図4)。この毛周期は少なくとも約1年継続することを観察しています。

ヘアフォリクロイドの移植

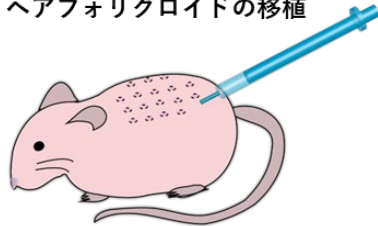


図4 ヘアフォリクロイドの移植で再生した毛髪

【今後の展開】

開発したヘアフォリクロイドを生命現象理解や創薬、再生医療に応用していくための最適化実験を進めていく予定です。生命現象理解においては、毛包においてメラノソームがどのように色素細胞から毛母細胞へ輸送されるのかといったメカニズムを理解したいと考えています。最新のイメージング技術を駆使して、毛包のメラノソームの動態を把握していく予定です。この研究により、毛髪が色づくメカニズムについての知見を広げていきたいと考えています。創薬、再生医療においては、細胞源をヒト細胞へ置換してヘアフォリクロイドを作製する研究を進めています。ヒト細胞でのヘアフォリクロイドの開発は、毛髪疾患における新たな薬剤の創出に貢献し、髪への毛の増加を可能とする毛髪再生医療の実現につながると考えています。もちろん様々な課題も山積みですが、その課題に真摯に向きあい、1つずつ解決していくことで、生命現象理解、創薬、再生医療の実現を目指していきたいと考えています。

【掲載論文】

“Reprogramming of three-dimensional microenvironments for in vitro hair follicle induction”

Tatsuto Kageyama, Akihiro Shimizu, Riki Anakama, Rikuma Nakajima, Kohei Suzuki, Yusuke Okubo, Junji Fukuda

Science Advances, DOI: 10.1126/sciadv.add4603

【研究資金】

本成果は、以下の事業・研究領域の助成によって得られました。

- ・ 国立研究開発法人 科学技術振興機構・さきがけ (JPMJPR19H2)
- ・ 文部科学省 地域イノベーション・エコシステム形成プログラム
- ・ 神奈川県立産業技術総合研究所・有望シーズ展開事業
- ・ 日本学術振興会科学研究費助成事業 (18K18971、19K21107、20K20208、20H02535)
- ・ 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 (19213841)
- ・ 住友財団 基礎科学研究助成
- ・ ホーユー科学財団 研究助成
- ・ 花王メラニン研究会 研究助成

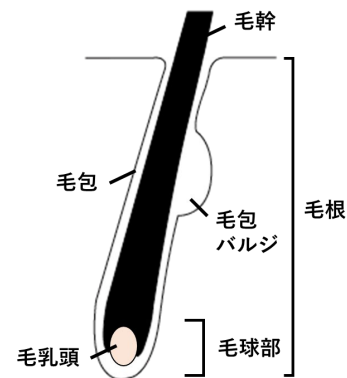
【用語解説】

※1 毛幹

一般的に体毛や毛髪と呼ばれている部分。毛球部に存在する毛母細胞が、毛乳頭からのシグナルを受け、毛幹ケラチンに分化することで形成される。

※2 オルガノイド

体外培養で幹細胞からつくられる三次元組織の総称。ミニ臓器ともよばれ、生体の機能の一部を再現している。



※3 メラノソーム

色素細胞でつくられる数百 nm サイズの生体微粒子であり、メラニン色素を保持している。毛髪では、髪の毛をつくる毛母細胞に取り込まれ、その細胞が毛幹ケラチンに分化することで色を持つ毛髪が形成される。

※4 毛球部

毛の根元にある球状にふくらんだ部分。ここでは、色素細胞がメラノソームを生成し、それを毛母細胞へと輸送することで、毛幹が着色される。

※5 上皮系細胞

主に外胚葉由来の細胞（体表面を覆う表皮や消化管や呼吸器の粘膜を構成する上皮など）が分類される。外気や体液にさらされている頂端面と結合組織に接着する基底面をもつ。

※6 間葉系細胞

主に中胚葉由来の細胞（真皮や結合組織など）が分類される。上皮系細胞のように頂端面や基底面をもたず、細胞外マトリクス内で紡錘状の形態をとる。

※7 キューティクル構造

髪の毛の最表面にあるウロコのように重なった構造。毛表皮ともよばれ、髪の毛の水分を内側から逃がしにくい構造になっている。

※8 マトリゲル

マウス肉腫を原料とする基底膜マトリクス。オルガノイド培養でよく用いられる。主要構成成分にラミニン、コラーゲンIV、ヘパラン硫酸、プロテオグリカン、エンタクチン/ナイドジェン、成長因子を含む。

※9 Wnt シグナル

毛包発生初期に活性化することが知られており、このシグナルが引き金となり、上皮系細胞と間葉系細胞が毛包を構成する細胞への分化を進める。

※10 差次接着性仮説 (Differential Adhesion Hypothesis)

異なる細胞の自己組織化によって形成される構造は、同種間および異種間の接着性のバランスで決まり、最終的に界面エネルギーの最も低い安定した構造を形成するという仮説。同種間の接着性が強く異種間の接着性が弱い場合は、ダンベル形状を形成しやすく、異種間の接着性が強まるにつれてコアシェル形状を形成するようになる。

※11 メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH)

色素細胞のメラノソーム産生を促進する効果のある薬剤。 α -MSHの生体模倣ペプチドであるパルミトイルテトラペプチド20 (PTP20) もメラノソーム産生を促進する効果が報告されており、この成分を配合したシャンプーは国内でも販売されている。

本件に関するお問い合わせ先

【研究に関すること】

神奈川県立産業技術総合研究所

有望シーズ育成事業 再生毛髪的大量調製革新技術開発プロジェクト

プロジェクトリーダー

横浜国立大学 工学研究院 教授

福田 淳二

E-mail: fukuda@ynu.ac.jp

【取材・報道に関すること】

神奈川県立産業技術総合研究所

研究開発部 地域イノベーション推進課

E-mail: rep-kenkyu@kistec.jp

TEL: 044-819-2031 FAX: 044-819-2026

横浜国立大学

総務企画部 学長室 広報・渉外係

E-mail: press@ynu.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

E-mail: jstkoho@jst.go.jp

TEL: 03-5214-8404 FAX: 03-5214-8432

【JST 事業に関する連絡先】

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

保田 睦子

E-mail: presto@jst.go.jp

TEL: 03-3512-3526 FAX: 03-3222-2064