

毛の再生技術と創薬研究へのアプローチ

松崎 貴

**Technologies for Hair Reconstruction and Their Applicability
for Pharmaceutical Research**

Takashi MATSUZAKI

*Department of Biological Science, Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University,
1060 Nishikawatsu-cho, Matsue City 690-8504, Japan*

(Received August 1, 2007)

Hair follicles are the organs that produce hair shafts. They periodically regenerate throughout the life of the organisms, which is called the hair cycle. To develop new drugs to treat hair disorders and diseases, reproducible and high throughput assays or screening methods have been required to estimate the efficacy of various factors on hair follicle function. Although organ culture of hair follicles is one of the useful ways to carry out such research, it is not suitable for manipulating the genes or cells present in hair follicles. Patch assay is a method used to reconstruct hair follicles from enzymatically dissociated skin cells and has many advantages compared to the conventional Chamber method. Using the Patch method, transferring genes into follicular cells becomes easier than ever before. Chimeric follicles could be produced with dissociated cells by modifying the combination of cells or by simply merging cells of different origins. These applications certainly help the progress of hair research. However, we recently found that some functions of dermal papillae and follicular epithelia change during the growing phase (anagen) of the hair cycle. Dermal papillae produce different factors in early anagen and mid anagen. The signals from dermal papillae in early anagen could produce hair bulbs with clonogenic epithelial precursors but not with dormant epithelial precursors. On the other hand, the signals from dermal papillae in mid anagen strongly promote hair formation with dormant epithelial precursors. Therefore, more attention should be given to the hair cycle stages when using organ culture of hair follicles and conducting reconstruction experiments with follicularly derived cells.

Key words—hair follicle reconstruction; dermal papilla; patch assay; retrovirus vector; epithelial precursor; organ culture

1. はじめに

毛髪がなくなっても命に別状はないものの、髪にまつわる精神的な悩みや不安は思いのほか大きく、日常の諸活動の低下や身体の変調を引き起こすことも少なくない。精神的ストレスあるいは環境からの種々のストレスが毛の成長を遅らせることも分かってきた。¹⁾ それゆえ、毛髪疾患の治療のみならず毛髪の量的、質的な改善は、大きな社会的意義を持っているといえる。毛髪は大人になっても再生を繰り返すユニークな組織であり、その伸長や生え替わりのしくみは意外に複雑であるが、近年の毛髪科

学の成果によって、毛髪再生のメカニズムが急速に明らかにされつつある。²⁾ その結果、男性ホルモンに対する応答性などを除くと、毛髪の発生過程も毛周期に伴う再構築過程も、マウスなどの実験動物とヒトとでかなり共通していることが分かってきた。これまで毛髪とは縁の薄かった分野から、どんどん新しい技術が持ち込まれ解析が進んでいる。しかしながら毛髪の研究者はまだまだ少なく、薬剤開発のためのストラテジーもスクリーニング法や評価方法等の開発も不十分なところが多い。本稿ではこうした現状を概説し、毛の再生技術として有用性の高いパッチ法について解説するとともに、今後の重点課題について考察したい。

毛髪は毛包あるいは毛嚢と呼ばれる器官で生産される。毛包の組織構築はかなり複雑で、一般に毛(髪)と呼ばれている毛幹が毛包の中心にあり、そ

島根大学生物資源科学部生物科学科 (〒690-8504 松江市西川津町 1060)

e-mail: tmatsu@life.shimane-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 127 年会シンポジウム S45 で発表したものを中心に記述したものである。

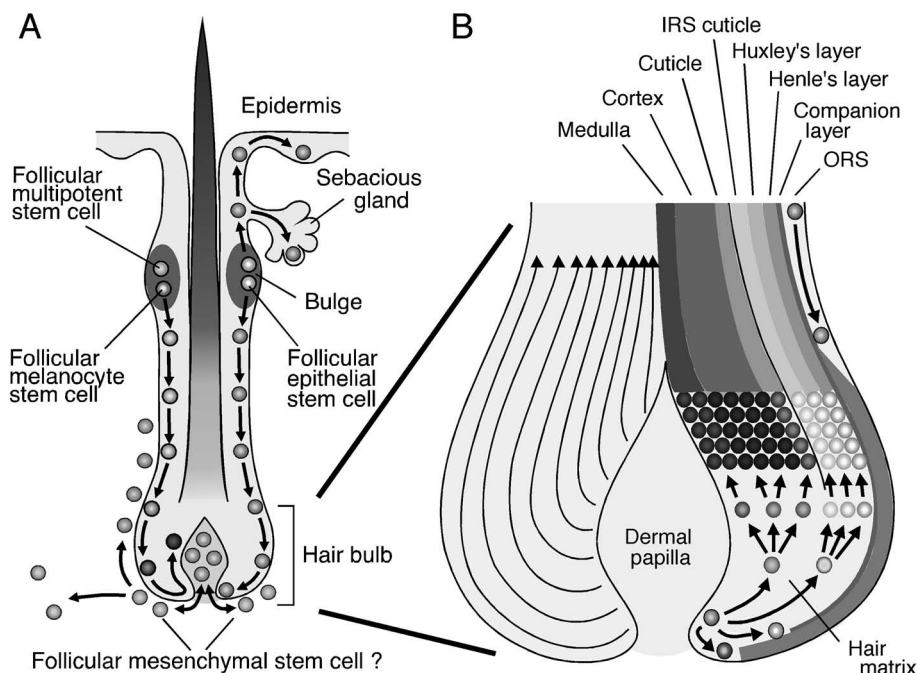


Fig. 1. Schematic Representation of Hair Follicle Structures and Migration of Follicular Cells

Hair follicles possess several different stem cells that support regeneration of hair matrix cells, follicular melanocytes, or follicular mesenchymal cells including dermal papilla cells during the hair cycle (A). The hair matrix cells differentiate into three kinds of hair shaft cells and three types of cells in the inner root sheath (IRS) with the aid of the dermal papilla (B). The companion layer that separates the outer root sheath (ORS) and IRS is also derived from the hair matrix.

の外側を内毛根鞘（IRS cuticle, Huxley's layer, Henle's layer）が囲み、一番外側を外毛根鞘（ORS）が包み込んでいる（Fig. 1）。毛髪は毛母細胞が増殖・分化・角化して作られ、成長期（anagen）、退行期（catagen）、休止期（telogen）の各ステージからなる毛周期にそって生え替わる（Fig. 2）。退行期にはアポトーシスによって毛母を含む毛包下部組織が失われるため、毛髪の伸長が止まる。²⁾ そのため次の成長期が始まるためには、毛包上部のバルジ領域に存在する幹細胞の子孫細胞（TA細胞）が増殖して下部組織を再生し、毛包下端において毛母に分化する必要がある（Fig. 1）。さらに毛母細胞は3種類の毛幹細胞と3種類の内毛根鞘に正確に分化する。これらの過程には毛母とそれを裏打ちする毛乳頭細胞の密接な相互作用が必須であり、もしその調節に異常があると毛髪の太さ、長さ、形状（波状毛など）、色などに問題が生じる。

2. 男性型脱毛と毛周期

脱毛症は代表的な毛髪疾患である。そのうち最も数が多いのが男性ホルモン依存的に症状が進行する男性型脱毛（AGA）である。男性型脱毛は早い人では20代から起こり始め、遺伝的背景の影響が大

きいと考えられているが、³⁾ 病気というよりも体質の差異と考えられるため、脱毛症ではなく単に脱毛とされることが多い。さらに言えば、円形脱毛症のように急速に毛髪が抜け落ちる訳ではなく、周期的な毛の再生現象である毛周期のサイクルが短縮し、再生する毛包のサイズが小さくなる、いわゆるミニチュア化が起こることによって、毛髪が細く短くなる症状（薄毛化）である。また、老化に伴う薄毛化や白髪化も毛周期と密接な関係にある。

しかし、これまでに開発されてきた多くの育毛剤は、毛母の細胞増殖を促すものや男性ホルモンの作用を抑えるものに限られ、直接毛周期を調節するのはまだない。もし、成長期→退行期→休止期を繰り返す毛周期の、成長期から退行期への移行を遅ら



松崎 貴

1962年茨城県生まれ。信州大学理学部卒業。東京大学大学院理学系研究科動物学専攻修士・博士課程修了。理化学研究所でゼブラフィッシュ研究の立ち上げに加わり、JST吉里再生機構PJ研究員着任時より毛髪の研究を開始。技術参事を経て、1998年島根大学生物資源科学部講師、2006年助（准）教授。毛周期の制御機構と毛包組織の分化機構がテーマ。

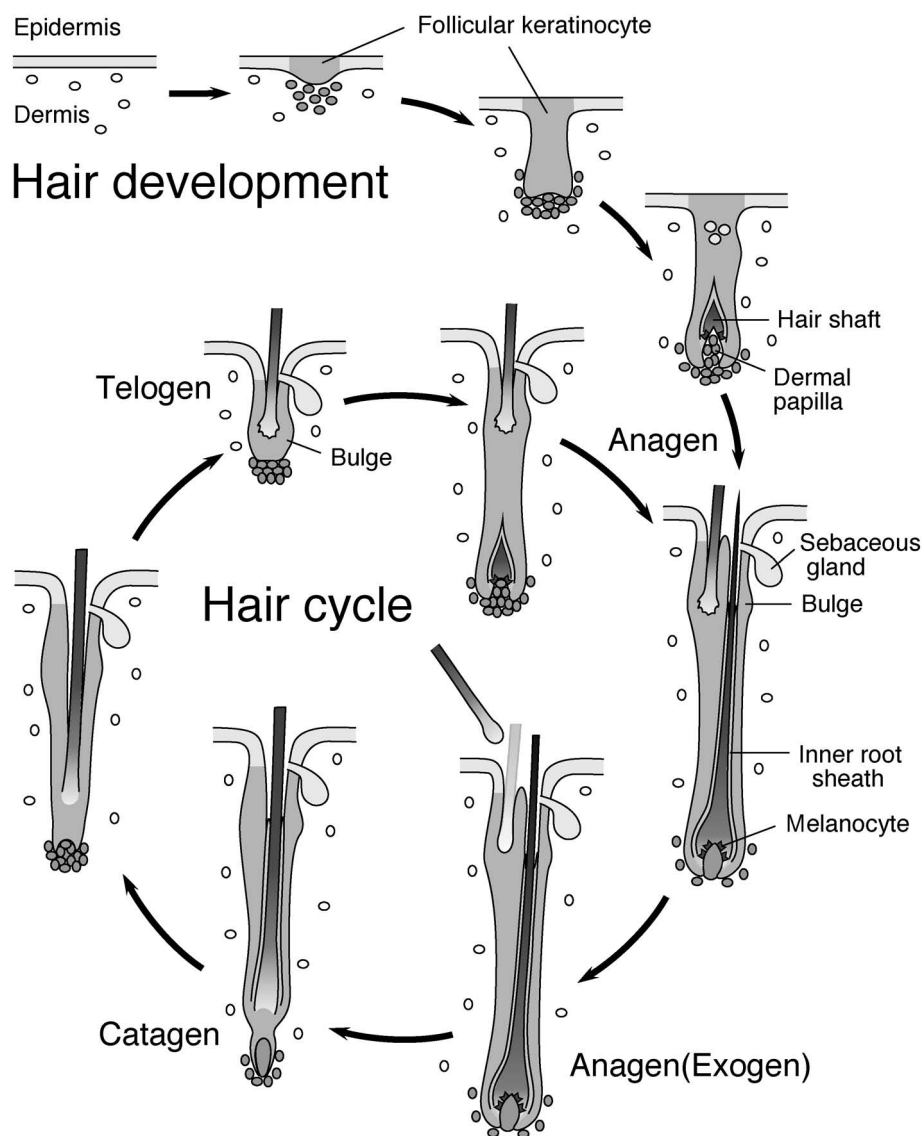


Fig. 2. Schematic Representation of Hair Development and Hair Cycle

Hair development is initiated by formation of epidermal thickening and establishment of follicle-type keratinocytes. Then the follicular keratinocytes assemble the dermal fibroblasts to make dermal condensation that become the dermal papilla in a later stage. The hair matrix cells and follicular melanocytes are activated by signals from the dermal papilla and function to maintain anagen (growing phase). Catagen is the regressing phase of the hair cycle. In this stage, the hair matrix and the lower follicle structure is regressed by apoptosis. After the resting phase (telogen), the follicles reenter anagen.

せることができれば、男性型脱毛にみられるミニチュア化を遅らせることができるし、休止期を短くできれば成長期毛の比率を上げられる。さらに、成長期が始まるときに再生する毛母のサイズや、毛母を支える毛乳頭のサイズを大きくすることができれば、毛髪をより太くすることが可能になるはずである。したがって、毛周期がどのようにコントロールされているのか、毛周期に伴って細胞がどのように変化するのかを知ることがとても重要であると考えられる (Fig. 2)。

また、老化に伴う薄毛化や白髪化では、毛母細胞

や毛包色素細胞のおおもとである幹細胞の枯渇が原因と考えられてきたが、幹細胞は想像されていたよりずっとフレキシブルであり、残された細胞をうまく活性化することで、こうした問題を解決できる可能性がみえてきた。^{4,5)} 幹細胞は毛周期を理解する上で不可欠であるばかりでなく、毛髪を生み出す器官である毛包は複数の幹細胞が存在する「幹細胞の宝庫」でもあり、毛髪以外の再生医療のターゲットとしてもっと注目されてよい。^{6,7)}

3. 男性型脱毛にどう取り組むか

前述のように男性型脱毛になる家系とならない家

系があり、前者の男性でも、前頭部と頭頂部は薄毛化するが側頭部と後頭部は薄毛化しない。そこで、男性型脱毛のメカニズムを解明したり薬剤を開発したりするためのいくつかのアプローチが考えられる。1つは家系の違いから遺伝的多型を探るもので、2つ目は薄毛化の起こる前頭部と起こらない後頭部とで違いを調べることである。前者のアプローチからは、男性ホルモン受容体 (AR) の CAG リピート数多型と男性型脱毛の関連が示唆されている。Sawaya らの報告では、男性型脱毛の男性ではリピート数が 19 ± 3 なのに対し、男性型脱毛でない男性では 22 ± 4 であった。⁸⁾ また、テストステロンの効果を高める 5α リダクターゼの活性阻害剤である finasteride の効果も、男性ホルモン受容体の遺伝的背景によって異なるという。すなわち、男性型脱毛の男性のうち、男性ホルモン受容体の CAG リピートと GGC リピートの合計数が 43 より多いと finasteride が効き難いことが分かった。Sawaya らの報告と単純に結び付けることはできないものの、より男性型脱毛を発症し易い低リピート数のタイプに finasteride が効果的であることは興味深い。⁹⁾ このようなリピート数の遺伝的差異が、男性ホルモン受容体の機能にどのように影響するのかはまだ不明であるが、ほかの遺伝子も含めた多型情報の集積によって男性型脱毛の遺伝的背景の理解が進むものと期待する。

2つ目のアプローチの例としては、男性型脱毛症状を示すベニガオザルあるいはヒトの前頭部と後頭部の毛包から毛乳頭細胞を培養して行った実験がある。それらの細胞にそれぞれ表皮細胞と男性ホルモンを添加すると、前頭部の毛乳頭細胞を用いた場合だけ表皮細胞の増殖が約半分に抑えられたことから、男性型脱毛の部位差は毛乳頭の違いであることが明らかになった。^{10,11)} こうした研究は男性型脱毛の解決策に直接つながる可能性が高く有望だが、男性ホルモン依存的な薄毛化現象はヒトと一部の霊長類にしかみられないので、材料入手や遺伝的不均一性の点で問題が少なくない。

4. 細胞・器官レベルでの研究手法

男性ホルモンの作用も、最終的には毛母細胞等に対する増殖シグナルの強弱として現れてくることから、男性ホルモンによる薄毛化がみられないマウス等の実験動物を用いても、いろいろなアプローチが

可能である。例えば、培養細胞や器官培養系を用いた方法である。毛髪の形成と伸長に最も重要なのは毛幹や内毛根鞘の母細胞である毛母細胞と、毛母の増殖・分化を支える毛乳頭細胞である。毛母細胞は生体中で最も活発に増殖する細胞の1つであるが、*in vitro* で増殖させることは簡単ではない。そこで研究には、毛母細胞の元になる毛包上皮細胞がよく用いられる。この細胞は、毛包を collagenase 等で処理することで入手可能である。しかし増殖能を持つ毛包上皮細胞はバルジなど限られた領域にしか存在せず、またその分布が毛周期とともに変わると考えられる。¹²⁾ ヒトの場合には、毛包を単離しなくても、頭髮をつまんで抜き取り、その下端に付着する外毛根鞘細胞を培養できるため、切開などの外科的な侵襲を避けて毛包上皮細胞を得ることが可能であり、有用な方法といえる。¹³⁾

一方、毛乳頭細胞は培養系に移しても増殖が遅く、培養を重ねることによって毛球新生能力 (毛包誘導能力) が失われることが大きな問題であった。¹⁴⁾ われわれは毛球部の細胞間相互作用に着目し、表皮細胞の培養上清を加えることでラットの頬髭毛包由来毛乳頭細胞の増殖を繊維芽細胞並みに高めることに成功した。さらにこの方法で 56 代に渡り継代培養した毛乳頭細胞に毛球新生能力があることを示し、表皮細胞の培養上清が毛乳頭細胞の増殖と細胞機能を活性化できることを明らかにした。¹⁵⁾ その後、表皮細胞の培養上清以外にも、fibroblast growth factor や Wnt が毛乳頭細胞の毛球新生能力を維持できることが分かってきた。^{16,17)} こうした物質が実際に毛乳頭周囲に発現していることから、生体中でも毛乳頭細胞の機能維持に係わっているものと考えられる。

培養細胞を用いて薬剤のスクリーニングをする場合、条件の揃った検体を多数用意できるメリットがある反面、*in vivo* での細胞間相互作用を反映しない可能性が高い。そこで上述の男性ホルモンの効果をみた実験のように、上皮細胞と毛乳頭細胞を共培養するのが1つの方法である。その際も、上皮細胞の角化を防ぐため低カルシウム濃度の培養液を用いるなどの工夫が必要となること、細胞が二次元的に配置しているため、及び細胞外基質環境も異なるため、*in vivo* と同様の相互作用が起こっているかどうか分からないこと等の問題があり、スクリーニン

グに適しているとはかならずしもいえない。また、コラーゲンゲル等を利用した skin equivalent に、毛包由来の細胞を導入して毛包様の構造を持たせることも、現時点ではうまくいっていない。

形成外科領域では毛包単位での移植手術（マイクログラフト）が実用化していることから分かるように、毛包が毛成長コントロールの独立した単位となっている。そこで、毛包を単離して器官培養を行い薬剤の効果を調べる方法が用いられている。ヒトの毛包を単離して William's E 培地で培養すると、1 週間以上も毛包の伸長がみられる。^{18,19)} この毛包の器官培養系を用いて、細胞増殖因子の影響や、transforming growth factor- β 2 (TGF- β 2) 及び interferon- γ (IFN- γ) が退行期を誘導することなど、様々な分子・因子の役割が解析されてきた。^{20,21)} また、ラットの口の周りにある頬髭毛包を、ゼラチンスポンジにのせて器官培養すると 3 週間以上維持することができる。培養開始時に成長期であったものが、培養中に退行期に入り、再び成長期に入ったことを示す組織像が、約 6 割の毛包でみられた。体毛毛包の器官培養では毛周期が回転するまで維持することはできないが、休止期が極端に短い頬髭毛包を用いることで、成長期-退行期/休止期-成長期と移行する過程でのアポトーシスや毛母再生の制御機構等を *in vitro* で研究できると考えられる。²²⁾ ただし、器官培養の期間を延長しても、細胞分化は初期成長期の段階で停止してしまい、その後の毛の伸長はみられないようである。器官培養系では毛母形成までに必要な情報はまかなえるが、毛母細胞の増殖を支える因子が不十分なのかもしれない。

毛周期に伴う毛包下部組織の再形成過程は毛包の発生過程と極めて類似している。²⁾ そこで発生期の毛包原基を含む皮膚を切り取って多孔性のメンブレンにのせ、培養液の上で浮遊培養する方法も用いられている。²³⁾ 培養液に薬剤を添加することで、毛包形成に及ぼす影響を調べることができるが、皮膚片の調製には技術を要すること、毛包形成の初期過程を対象としたアッセイしかできないことから、応用の範囲は限られてくる。

5. 毛包の再構築系

器官培養を用いた実験系は、*in vivo* の細胞-細胞あるいは細胞-細胞外基質相互作用をかなり反映すると考えられるため、現時点では最も有用なアッセ

イ法であると考えられる。しかし、遺伝子や因子の機能や薬剤の作用機序を調べるためには、毛包の細胞組成や特性を任意に変化させることができる方がより好都合である。毛包においてのみ遺伝子機能を改変するために、種々の特異的プロモーターを用いた遺伝子組換え体が作製されている。最も早く利用されたのは外毛根鞘基底細胞に発現する keratin1-14 (K14) プロモーターである。しかしこのプロモーターは表皮基底細胞にも発現するため、かならずしも毛包での機能だけを操作できる訳ではない。近年、毛包上皮幹細胞に発現する遺伝子がいくつもみつかってきており、その 1 つである keratin1-15 (K15) プロモーターを用いると、毛包上皮の細胞系譜を特異的に標識したり改変したりできる。²⁴⁾ もう一方の主演である毛乳頭細胞は、成長期に versican を発現することから versican プロモーターを利用した毛乳頭特異的標識が行われている。²⁵⁾

こうした特異的プロモーターを利用してコンディショナルな遺伝子変異体を作るとは強力な研究手法となるが、多大な時間や労力、コストが掛かるのが難点である。そこで、毛包細胞を解離したのち、種々の細胞処理や遺伝子操作を施し、細胞を再集合させ毛包を再構築すれば、容易に変異体毛包を作製できるのではないかと考えられる。これまでも解離細胞から毛包を再構築する様々な手法が考案されてきた。例えば平井らは、毛包の原基である毛芽ができ始めた胎齢 13 日のマウス胚を trypsin と EDTA で解離細胞とし、Nuclepore フィルターにのせて浮揚培養すると自立的に毛包が形成されること示した。²⁶⁾ また、解離細胞を旋回培養して剪断力を与えることで、再集合した細胞の細胞選別を助け、効率的に自己組織化を図らせたのちに浮揚培養する方法も用いられた。²⁷⁾ しかし、こうした方法では、再構築毛包を安定して多量に得ることが難しいためか、薬剤のスクリーニング等にはほとんど活用されていないようである。

一方、毛乳頭細胞の毛球誘導能の試験等には Lichti らによって考案されたチャンパー法がよく利用されている。²⁸⁾ この方法は、マウス新生仔の皮膚を trypsin で処理して表皮と真皮に分け、それぞれを解離したのち、再び混合してヌードマウスの背中に移植するものである (Fig. 3(A))。移植のためには、まずレシピエントの背部皮膚を丸く切り取り、

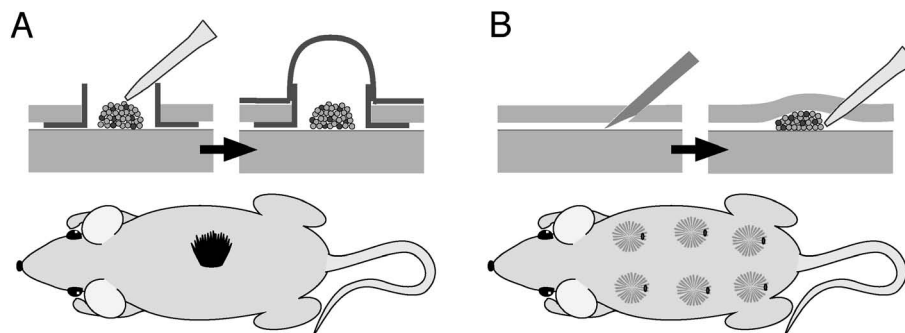


Fig. 3. Methods for Hair Follicle Reconstruction from Dissociated Cells

It has been developed several methods to differentiate enzymatically dissociated skin cells into hair follicles *in vivo*. In the Chamber method, the cells are implanted on a wound bed that has been made with silicone chamber (A). A bunch of hair would be observed on the skin surface of the recipient mouse in several weeks after transplantation. In Patch method, the cells are injected beneath the superficial fascia (B). Hair formation occurs under the skin, but it could be noticed by raised surface of the skin like a patch by 12 days after grafting.

そこにシリコン製のチャンバーを取り付けて移植床 (wound bed) を作る。ここに解離細胞を注入することで、細胞の乾燥や汚染を防ぎながら組織を再構築させることができる。チャンバーを一週間後に外すと、ヌードマウスの皮膚が再生して傷口が閉じ、やがて皮膚表面に発毛が観察される。新生する毛の長さや太さはほぼ揃っていることから、再構築される毛包のサイズはほぼ一定であると考えられる。毛包の再構築には、表皮細胞あるいは毛包上皮細胞と、新生仔から取った新鮮な真皮細胞が必要である。新鮮な真皮細胞の代わりに培養した繊維芽細胞などを加えても発毛がみられないことから、チャンバーに注入する細胞の組成を変えることで、特定の細胞の毛包誘導能を評価することができる。

このほかに、毛の生えていない足裏の皮膚を切り取り、表皮と真皮の隙間に毛乳頭細胞を挿入し、これを腎臓の皮膜の下に移植して毛包形成を促すサンドウィッチ法がある。¹⁵⁾ また、ラットやマウスの頬髭毛包を長軸に対して水平に切断した毛包断片に、毛乳頭を挿入して毛球形成の有無を調べるアッセイ法もある。²⁹⁾ しかし、後述するように、使用する頬髭毛包断片の位置や毛周期ステージによって毛球誘導率が変わるため、注意が必要である。

6. パッチ法：新しい毛包再構築法

最近、チャンバー法に代わる簡便な毛包再構築法が考案され、その有用性が認められつつある。³⁰⁾ この方法はパッチ法と呼ばれ、チャンバー法と同様に調製したマウス新生仔の表皮・真皮解離細胞を、それぞれ 0.5×10^6 個、 1×10^6 個ずつ混ぜ合わせて $50 \mu\text{l}$ 程度の培養液に懸濁し、 25 G の注射針を付けた

シリンジでヌードマウスの皮下に移植するものである。注入した細胞が毛包に再構築されるため、移植12日後頃には皮膚がパッチ状に膨らんで見える。再構成される毛包数は250–300程度であるが、移植する表皮解離細胞の数を 0.1×10^6 にすると毛包数は1/5程度に減少してしまう。しかし、表皮細胞数を増しても毛包数は増加しなかった。パッチ法は、チャンバー法より細胞移植の手間が格段に少ないだけでなく、1匹のヌードマウス当たりに移植できる数が多いこと、ヌードマウス以外にも同系の有毛マウスが使えることなど利点が多い。われわれは、毛包の原基である毛芽が既に形成されている胎齢15.5日以降のマウス胚を collagenase/dispase で解離し、できるだけ培養液を除いて粘稠な細胞懸濁液として、注射針で皮膚に開けた穴から細胞を注入することで、毛包を効率よく再構築できることを見出した (Figs. 3(B) and 4)。また、解離細胞を移植する前に、レトロウイルスベクターを用いて lac-Z 遺伝子を導入したところ、毛母細胞、色素細胞、毛乳頭細胞など、様々な毛包細胞に遺伝子が取り込まれることが分かった (Fig. 4(C))。この方法は、細胞系譜解析のほか、トランスジェニック毛包の作製に応用できる。また、全身の細胞で Green Fluorescent Protein (GFP) を発現するトランスジェニックマウス由来の毛包細胞を加えることで、キメラ毛包を作製することができる (Fig. 4(D))。この方法は遺伝子操作した細胞や変異体由来の細胞を毛包組織に組み入れて、その機能を解析する上で有用である。少なくとも一部の培養細胞は、再構成毛包のなかでも本来の機能を発揮することが確認されている

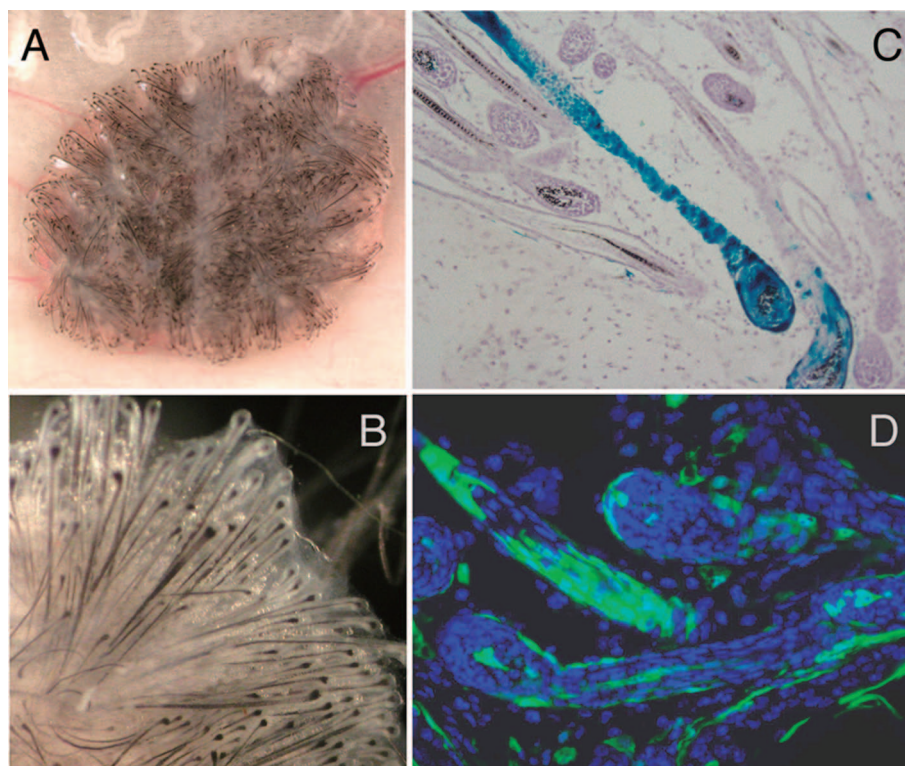


Fig. 4. Follicles Reconstructed by Patch Method

A lot of pelage-like follicles were reformed beneath the superficial fascia after 12 days of implantation (A). A magnified photograph of reconstructed follicles (B). Gene transfer into reconstructed follicles with lac-Z retroviral vectors (C). Retroviral vectors could introduce genes of interest into several different types of follicular cells when they had been administered with the dissociated skin cells before transplantation. Chimeric follicles were easily produced by adding the cells of different sources (D). These techniques are applicable to various purpose on hair researches.

ので、種々の遺伝子機能・細胞機能を研究する上で活用が期待できる。

7. 成長期における毛髪誘導能の変動

毛包の器官培養や毛包再構築系を用いて、毛乳頭細胞などの機能を調べることができるようになってきた。しかし、毛周期のどのステージの材料を用いるかで結果が大きく代わる可能性がある。成長期と退行期、休止期が異なるのは容易に想像が付くであろう。しかし、新たに毛球を作り出す能力（毛球誘導能）は、成長期の中でもステージによって異なることがわれわれの研究で明らかになってきた。³¹⁾ 毛髪の形成には毛乳頭からのシグナルと、そのシグナルを受け取る上皮細胞の受容体がともに必要と考えられる。様々な毛周期ステージのマウス頬髭毛包を4つに切断して毛乳頭を移植したところ、成長期の初期と中期では全く性質の異なる毛乳頭シグナルが出ていることが分かった (Fig. 5)。両シグナルの違いは、毛母がある毛球部と幹細胞があるバルジ領域との中間領域の毛包上皮細胞と組み合わせたと

き、最も明瞭に現れた。すなわち、初期成長期の毛乳頭を退行期の中間領域と組み合わせると毛球が高頻度に誘導されたものの、初期、中期、終期成長期の上皮細胞と組み合わせただけの場合は低頻度でしか毛球を形成できなかった。ところが、中期成長期の毛乳頭は初期、中期、終期成長期の上皮細胞に効率的に毛球を誘導できたのに対し、退行期の中間領域にはほとんど毛球を誘導できなかった。この結果は、シグナルの強弱やシグナル受容能の有無では説明が付かないことから、初期成長期毛乳頭が出すシグナルと中期成長期毛乳頭が出すシグナルが異質のものであり、それぞれのシグナルに反応できる細胞の分布が毛周期とともに、また毛包の長軸に沿って変化するのではないかと考えた。

このモデルの妥当性を探るために、毛乳頭細胞のアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の変化を調べた。ALP 活性は成長期の毛乳頭細胞に特異的にみられることから、毛髪誘導能との関連が示唆されていたが、マウスの頬髭で詳細に調べると、成

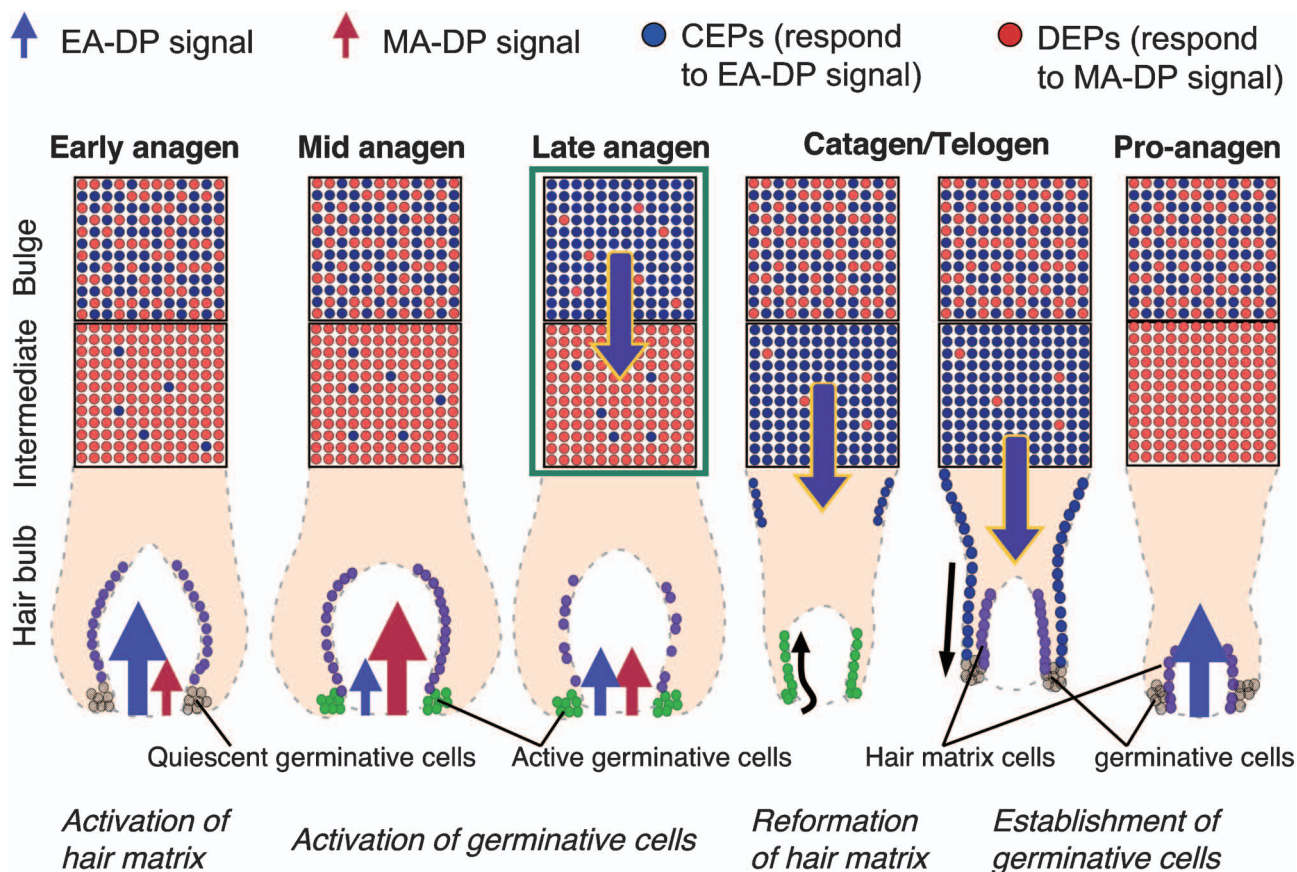


Fig. 5. A Model of Migration and Differentiation of Hair Matrix Precursors in Vibrissa Follicles

Clonogenic epithelial precursors (CEPs), which can strongly respond to early anagen (EA)-dermal papilla (DP)-derived signals and make hair bulbs, would break out in bulge region in late anagen. CEPs migrate downward during catagen and telogen and reach the lower end of the follicle, which might become hair germ cells or germinative cells. The germinative cells could differentiate into the hair matrix cells, but it must occur in subsequent catagen. Signals of mid anagen (MA)-DP induce hair formation with dormant epithelial precursors (DEPs) but not with the CEPs. Transition of cellular function of epithelial precursors in the hair bulb may be directly related to the control of the hair matrix size.

長期の初期と中期で活性部位や強度が異なることが分かった。³²⁾ さらに、毛乳頭での活性変動と胚芽細胞での活性変動とがちょうど逆になっていた。ALPの役割はまだはっきりしていないが、胚芽細胞は毛母細胞の元になる毛芽細胞と考えられるので、毛周期に伴うALP変化が次の毛周期に向けた毛芽や毛母の準備と深く関わっているものと思われる。また、退行期には上皮の限られた細胞にだけALP活性が一過性に出現した。この活性と上皮細胞の移動や分化が密接に関係していると考えられることから、毛髪誘導能の変化と合わせた細胞動態モデルを構築した (Fig. 5)。このモデルにおいて、毛周期成長期の初期は毛母を確立する過程と捉え、中期は毛母への分化を抑えることで毛包サイズ (結果として毛包サイズ) を確定する過程であり、同時に次の毛周期のために胚芽細胞 (毛芽) を確立する

時期であると考えた。上皮幹細胞が毛芽、毛母を経て毛髪や内毛根鞘に分化する一連の過程が、成長期だけではなく退行期や休止期に既に始まっているとした点がこれまでの説とは大きく違うところである。われわれが実験に用いた頬髭毛包の細胞動態は、体毛やヒトの頭髪の毛包のものとは違う可能性もあるが、成長期における細胞特性の変化や退行期・休止期における毛母再生に向けた活性化現象は、これまで主に研究されてきた体毛や頭髪毛包の系でも見逃されていた可能性がある。

8. おわりに

毛髪の疾患や問題に対応する薬剤開発のための研究手法はまだ十分とは言えないものの、毛包の器官培養系や解離細胞からの毛包再構築系など利用可能なレベルの技術が開発されてきている。こうした既存の手法に、これまで他の分野で培われてきた技術

や経験が導入されることで、急速に発展する余地がある。しかし、ほかの組織や器官と違い、毛包には毛周期があるため、対象とする毛包の毛周期ステージをきちんと把握しておくことが必要であろう。

最近、マウスの背部皮膚に大きな全層欠損創を作ると、再上皮化したのち、中央部から毛包が再生することが報告された。³³⁾ これまで、毛包の数は胎児期に確定し、その後は変化しないと語られることが少なくなかったが、少なくとも *in vivo* では毛包を新生するのに必要な環境が用意されているということであろう。Wnt シグナル系を活性化することで実験的に毛包数を増すことができたのも、こうした背景があるからだと考えられる。^{34,35)} 今後、毛包形成の初期過程がどのようにコントロールされているのかが解明されれば、培養細胞等を用いて *in vitro* で毛包を新生させることもあながち夢ではないのではないかと考えている。

REFERENCES

- 1) Arck P. C., Slominski A., Theoharides T. C., Peters E. M., Paus R., *J. Invest. Dermatol.*, **126**, 1697–1704 (2006).
- 2) Stenn K. S., Paus R., *Physiol. Rev.*, **81**, 449–494 (2001).
- 3) Hamilton J. B., *Am. J. Anat.*, **71**, 451–480 (1942).
- 4) Kobiela K., Stokes N., de la Cruz J., Polak L., Fuchs E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 10063–10068 (2007).
- 5) Yu H., Fang D., Kumar S. M., Li L., Nguyen T. K., Acs G., Herlyn M., Xu X., *Am. J. Pathol.*, **168**, 1879–1888 (2006).
- 6) Richardson G. D., Arnott E. C., Whitehouse C. J., Lawrence C. M., Reynolds A. J., Hole N., Jahoda C. A., *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, **10**, 180–183 (2005).
- 7) Amoh Y., Li L., Katsuoka K., Penman S., Hoffman R. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 5530–5534 (2005).
- 8) Sawaya M. E., Shalita A. R., *J. Cutan. Med. Surg.*, **3**, 9–15 (1998).
- 9) Wakisaka N., Taira Y., Ishikawa M., Nakamizo Y., Kobayashi K., Uwabu M., Fukuda Y., Taguchi Y., Hama T., Kawakami M., *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, **10**, 293–294 (2005).
- 10) Obana N., Chang C., Uno H., *Endocrinology*, **138**, 356–361 (1997).
- 11) Inui S., Fukuzato Y., Nakajima T., Yoshikawa K., Itami S., *FASEB J.*, **16**, 1967–1969 (2002).
- 12) Oshima H., Rochat A., Kedzia C., Kobayashi K., Barrandon Y., *Cell*, **104**, 233–245 (2001).
- 13) Gho C. G., Braun J. E., Tilli C. M., Neumann H. A., Ramaekers F. C., *Br. J. Dermatol.*, **150**, 860–868 (2004).
- 14) Jahoda C. A., Horne K. A., Oliver R. F., *Nature*, **311**, 560–562 (1984).
- 15) Inamatsu M., Matsuzaki T., Iwanari H., Yoshizato K., *J. Invest. Dermatol.*, **111**, 767–775 (1998).
- 16) Osada A., Iwabuchi T., Kishimoto J., Hamazaki T. S., Okochi H., *Tissue Eng.*, **13**, 975–982 (2007).
- 17) Kishimoto J., Burgeson R. E., Morgan B. A., *Genes Dev.*, **14**, 1181–1185 (2000).
- 18) Philpott M. P., Sanders D., Westgate G. E., Kealey T., *J. Dermatol. Sci.*, **7 Suppl**, S55–72 (1994).
- 19) Randall V. A., Sundberg J. P., Philpott M. P., *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, **8**, 39–45 (2003).
- 20) Soma T., Tsuji Y., Hibino T., *J. Invest. Dermatol.*, **118**, 993–997 (2002).
- 21) Ito T., Ito N., Saathoff M., Bettermann A., Takigawa M., Paus R., *Br. J. Dermatol.*, **152**, 623–631 (2005).
- 22) Philpott M. P., Kealey T., *J. Invest. Dermatol.*, **115**, 1152–1155 (2000).
- 23) Kashiwagi M., Huh N. H., *Methods Mol. Biol.*, **289**, 39–46 (2005).
- 24) Morris R. J., Liu Y., Marles L., Yang Z., Trempus C., Li S., Lin J. S., Sawicki J. A., Cotsarelis G., *Nat. Biotechnol.*, **22**, 411–417 (2004).
- 25) Kishimoto J., Ehama R., Wu L., Jiang S., Jiang N., Burgeson R. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 7336–7341 (1999).
- 26) Hirai Y., Takebe K., Takashina M., Kobayashi S., Takeichi M., *Cell*, **69**, 471–481 (1992).
- 27) Ihara S., Watanabe M., Nagao E., Shioya N., *Cell Tissue Res.*, **266**, 65–73 (1991).
- 28) Weinberg W. C., Goodman L. V., George C., Morgan D. L., Ledbetter S., Yuspa S. H.,

- Lichti U., *J. Invest. Dermatol.*, **100**, 229–236 (1993).
- 29) Kobayashi K., Nishimura E., *J. Invest. Dermatol.*, **92**, 278–282 (1989).
- 30) Zheng Y., Du X., Wang W., Boucher M., Parimoo S., Stenn K., *J. Invest. Dermatol.*, **124**, 867–876 (2005).
- 31) Iida M., Ihara S., Matsuzaki T., *Differentiation*, **75**, 371–381 (2007).
- 32) Iida M., Ihara S., Matsuzaki T., *Dev. Growth Differ.*, **49**, 185–195 (2007).
- 33) Ito M., Yang Z., Andl T., Cui C., Kim N., Millar S. E., Cotsarelis G., *Nature*, **447**, 316–320 (2007).
- 34) Zhou P., Byrne C., Jacobs J., Fuchs E., *Genes Dev.*, **9**, 700–713 (1995).
- 35) Gat U., DasGupta R., Degenstein L., Fuchs E., *Cell*, **95**, 605–614 (1998).