

博士論文

毛髪再生医療を目指した
毛包原基の大量調製に関する研究

(Large-scale preparation of hair follicle germs for hair regeneration)

横浜国立大学大学院

工学府

景山 達斗

Kageyama Tatsuto

2017年3月

論文要旨

毛髪疾患の新しい治療法として、毛髪を生み出す毛包原基を生体外で構築し、これを移植する毛髪再生医療に期待が寄せられている。毛包は胎児期において、上皮系細胞と間葉系細胞の相互作用により、毛包原基が形成することで発生する。これを模倣し、毛包原基を生体外で構築して免疫不全マウス皮下に移植すると、正常な毛が再生されることが示されている。しかし、この手法では、上皮系細胞と間葉系細胞のペレットをそれぞれ作製し、微小ゲル内に顕微鏡下で、手作業で隣接配置するという手順が含まれている。ヒトの毛髪再生を考えると数万の毛包が必要であり、この手法をそのまま適用すると、多大な労力が必要となる。本研究では、独自に作製したマイクロウェルアレイチップを用いて、毛包原基を大量に作製する技術を開発し、免疫不全マウスへの移植により毛髪再生を行った。本論文は六章から構成されており、各章の概要は以下の通りである。

第一章 序論

本章では、脱毛症に対する既往の治療法を紹介すると共に、最先端治療として期待されている毛髪再生医療のアプローチについて説明した。毛髪再生医療のアプローチとして、従来の細胞移植では再生効率が低いため、近年では、組織工学技術を用いて毛包原基を構築し、それを移植することで再生効率が上昇するようになってきた状況を示した。既往研究から、毛髪再生医療を実用化する上での問題点は毛包原基の簡便な大量培養技術の欠如であることを指摘し、これを克服する新規技術の開発を本研究の目的として明示した。

第二章 自発的な細胞凝集現象を用いた毛包原基の調製

本章では、本研究の基盤技術である自発的な細胞凝集現象を用いた毛包原基の調製法について詳しく述べる。これはマウス胎児の上皮系細胞と間葉系細胞の2種類の細胞混合液を混合して播種するといった非常に簡便な操作のみで毛包原基が構築でき、大量調製に適した手法である。調製した毛包原基を免疫不全マウスに移植することにより、移植部から毛髪の再生が観察され、再生した毛髪は正常な毛周期を繰り返した。

第三章 コラーゲンを含む毛包原基の調製

本章では、成長期の毛包に豊富に含まれるコラーゲンを含む毛包原基を用いた毛髪再生について述べた。生体内の細胞は細胞外マトリックスと接着した状態で存在しており、その

結合が生体の様々なシグナル伝達や機能維持に関わっている。本研究では、間葉系細胞を包埋したコラーゲンマイクロゲルを調製し、上皮系細胞と混合して培養することでコラーゲンを含む毛包原基を調製した。調製した毛包原基を免疫不全マウスへ移植したところ、コラーゲンの作用により毛髪再生の本数が増加することが観察された。

第四章 マイクロアレイチップを用いた毛包原基の大量調製

本章では、微細なウェルを均一かつ規則的に複数配置したポリジメチルシロキサン (PDMS) 製のマイクロアレイチップを開発し、毛包原基を大量に調製する技術について述べた。作製したチップは、培地表面からの酸素供給に加えて、酸素透過性の高い PDMS 膜を介した底面からも酸素供給可能である。このため、細胞の大量培養で課題となる細胞の低酸素障害が抑えられ、毛包原基の大量培養を実現できた。2種類の細胞混合液を作製したチップ上に播種すると、すべてのウェル内で毛包原基が形成された。さらに、作製した毛包原基をシートとして *in situ* 架橋ゲルに転写した後、免疫不全マウスにこのシートを移植することにより、免疫不全マウス皮下に高密度で毛を再生できることを明示した。

第五章 ヒト毛乳頭細胞を用いた毛包原基の大量調製

本章では、ヒト毛髪再生への応用に向けて、ヒトの毛根に存在する毛乳頭細胞を用いた毛包原基の大量調製について述べた。マウス胎児の上皮系細胞とヒト毛乳頭細胞を混合した懸濁液をチップに播種することで毛包原基を大量調製した。これを免疫不全マウスの皮膚に移植すると、正常な毛周期を繰り返す組織学的に正常な毛包を再生した。

第六章 結論

本章では、本論文を総括し、今後の展望について述べた。