

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 金山幸司

本研究は、ヒト毛包由来細胞移植による毛髪再生治療の開発を行うため、ヒト毛包から単離した毛包由来間葉系細胞（毛乳頭細胞と真皮毛根鞘細胞）の増殖能と毛包誘導能の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 第一章では、酸素濃度が毛包由来間葉系細胞に及ぼす影響について解析するために、毛乳頭細胞および真皮毛根鞘細胞を異なる酸素濃度（1%, 6%, 20%）下で培養した。細胞増殖試験と BrdU 取り込みアッセイにおいて、6%酸素が毛乳頭細胞および真皮毛根鞘細胞の増殖能を最も促進することが示された。また、1%酸素は毛乳頭細胞の増殖能を抑制し、20%酸素は真皮毛根鞘細胞の増殖を抑制した。
2. 1%酸素下で培養した毛乳頭細胞では *BMP4*, *LEF1*, *VCAN* など複数の毛包誘導関連遺伝子の発現が低下していることがリアルタイム PCR で示された。また、20%酸素下で培養した真皮毛根鞘細胞では毛包誘導関連遺伝子のうち多分化能関連遺伝子でもある *SOX2* の発現が低下していた。
3. 6%酸素下または 20%酸素下で培養した場合の毛包由来間葉系細胞の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにより比較したところ、毛乳頭細胞では発現している毛包誘導関連遺伝子に関して両群間で有意な差を認めなかった。一方、真皮毛根鞘細胞では 6%酸素群の方が 20%酸素群よりも *SPRY1*, *NROB1*, *MSX2*, *IFITM1* など複数の多分化能関連遺伝子の発現が相対的に高かった。
4. 培養した毛包由来間葉系細胞の毛包誘導能をグラフトチャンバー法による移植実験で評価した。毛乳頭細胞では 6%酸素群で最も再生毛包の総数が多く、1%酸素群では少ないことが示された。真皮毛根鞘細胞では 1%酸素群で再生毛包の成熟度が高いことが示された。
5. 第二章では、ヒト由来の多血小板血漿（PRP）が動物由来のウシ胎児血清（FBS）と比較してヒト毛乳頭細胞の培養に有効であるか否かを解析した。細胞増殖試験と BrdU 取り込みアッセイにおいて、PRP が毛乳頭細胞の増殖能をより促進することが示された。
6. PRP 含有培地で培養した毛乳頭細胞では *ALPL*, *TGFB2*, *VCAN* など複数の毛包誘導関連遺伝子

の発現が上昇していることがリアルタイム PCR で示された。

7. 培養した毛乳頭細胞の毛包誘導能をグラフトチャンバー法による移植実験で評価した。PRP 含有培地で培養した毛乳頭細胞の方が再生毛包の総数が多く、再生毛包の成熟度も高いことが示された。

以上、本論文はヒト毛包由来間葉系細胞に関して *In vitro* で増殖能を *In vivo* で毛包誘導能を解析することにより、毛乳頭細胞と真皮毛根鞘細胞では培養における至適な酸素濃度が異なることを明らかにした。特に低酸素が真皮毛根鞘細胞の増殖能の促進と毛包誘導能の維持にとって有効であることは未だ報告されていない新しい知見である。また、ヒト由来の PRP が毛乳頭細胞の増殖能の促進と毛包誘導能の維持において FBS に劣らないという結果は、動物由来成分を使用しない安全性の高い培養法を提供する。本研究で得られた知見は、細胞移植による毛髪再生治療の確立と発展に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。