



東北大学

平成26年11月10日

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

上皮（角化）細胞の増殖・分化機構の解明  
～皮膚や毛の再生への応用が期待～

【ポイント】

- ・皮膚には幹細胞が存在し、増殖しながら角化細胞へと分化する。
- ・幹細胞から一時的に増殖する細胞（TA細胞）に変化する過程において重要な因子を同定。
- ・皮膚や毛の分化機構の解明や、その再生に応用可能。

【研究概要】

国立大学法人東北大学大学院歯学研究科の中村 卓史(なかむら たかし)准教授、福本 敏(ふくもと さとし)教授らのグループは、米国国立顎顔面歯科学研究所の山田 吉彦(やまだ よしひこ)主任研究員らとの共同研究の成果により、角化（上皮）幹細胞から生まれた前駆細胞の増殖と分化をともに制御する単一の分子を発見しました。

表皮、毛、爪、消化管上皮などの上皮組織は、一生を通じて自己再生を続けています。表皮の場合、角化細胞（ケラチノサイト）の前駆細胞が幹細胞から分化・増殖し、表皮の最深部に単層構造を形成します。上皮細胞の幹細胞が前駆細胞へと分裂し、活発に増殖した後に増殖を停止し分化に移行する機構は、表皮、毛、爪でも共通に見られる現象ではありますが、それがどのように制御されているかは不明な点が多く残っていました。本研究では、幹細胞から生まれた前駆細胞が増殖活性を獲得した後、細胞分裂を停止し、分化・成熟する一連の過程が、単一の分子により細胞周期調節因子や転写因子<sup>注1</sup>として複数の機能を発揮することで制御されていることを発見しました。本研究によって、皮膚や毛の再生へ向けた新たな幹細胞制御法の開発や癌の発生病態の理解がさらに

進む事が期待されます。

本研究の成果は平成 26 年 10 月 24 日に英科学雑誌、Journal of Cell Science 誌電子版に掲載されました。

### 【研究内容】

けがをしたときに皮膚が再生し、毛や爪が生え伸び続けるのは、これからの組織に幹細胞が存在するためで、自己複製器官 (self-renewing organ) <sup>注2</sup> と呼ばれています。ネズミ等のげっ歯類の前歯が伸び続けるのも同様に歯の幹細胞が存在しているからだと考えられています。これらの幹細胞は組織幹細胞 (tissue stem cell) あるいは成体幹細胞 (adult stem cell) と呼ばれ、胚性幹細胞 (ES 細胞) や人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) とは異なり、成体では細胞の分化方向がある程度制約されています。一方で組織幹細胞は、所属する組織のすべての組織構成細胞を作り出す能力を有しているため、ES 細胞や iPS 細胞よりもより簡単に再生医療に応用できるのではないかと考えられ注目されています。組織幹細胞も ES 細胞同様に、幹細胞自身のための複製の対称分裂と将来的に分化する細胞の数を増やすための非対称分裂の 2 種類の細胞分裂を行うことによって、自己複製と分化を可能にしています。表皮の場合、角化幹細胞は最下層の基底細胞層と呼ばれる場所で維持されています。角化幹細胞の非対称分裂により、細胞増殖が一過性に高度に活性化された前駆細胞が作られます。この細胞を Transit Amplifying cell (TA 細胞) と呼びます。幹細胞の細胞分裂は数週から数ヶ月に一回とゆっくりと行われているのに対し、TA 細胞は数時間に一回と非常に活発な細胞増殖能を有しています。しかしながら TA 細胞の細胞分裂は厳格に規定されており、たった数回の活発な細胞分裂後に、その細胞分裂を停止し、細胞分化へとスイッチが入れ替わり成熟していきます。これらの一連の過程で、細胞の運命が、どのような分子機構によって切り替わっていくのかこれまでは不明でした。今回我々は、エピプロフィン (Epfn) <sup>注3</sup> という分子がその発現量を変え、細胞内局在と共役するパートナー分子を変えることによって、TA 細胞の分裂促進、増殖停止、分化促進のすべての過程で重要な役割を演じていることが明らかとなりました(図 1)。

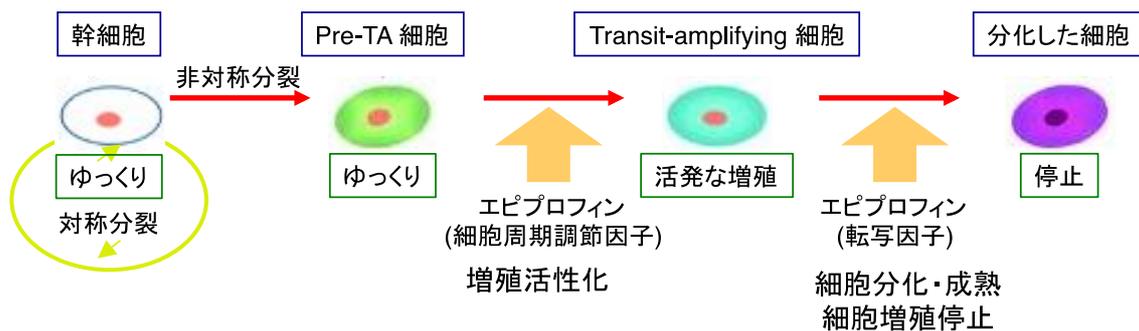


図1 自己複製器官におけるエピプロフィンの役割 (皮膚、毛、爪、消化管上皮)

幹細胞が非対称分裂により、角化前駆細胞いわゆる TA 細胞を作り出すと、これまでは考えられていました。しかしながら **Epf**n 遺伝子を欠損したマウスの表皮においては、幹細胞と TA 細胞の両方の特性を有するキメラな細胞が蓄積し、その結果上皮の肥厚が確認されました。さらに興味深いことに、蓄積している細胞は TA 細胞のマーカー遺伝子を発現しているものの、細胞増殖を活性化させる増殖因子 **EGF** には応答せず、幹細胞に似てゆっくりとした細胞分裂を呈したため、我々はこの細胞を **pre-TA** 細胞と名付けました。つまり、幹細胞から一旦非対称分裂を行うことにより **pre-TA** 細胞が作られ、**pre-TA** 細胞が **Epf**n を発現することで増殖活性を獲得することが分かりました。**Epf**n が細胞増殖活性を TA 細胞に獲得させるためには、2つの方法を取ることが分かりました。1つは、**EGF** 活性を中和してしまう **Lrig** という分子の発現を押さえ、**pre-TA** 細胞に **EGF** の応答性を獲得させます。**Lrig** は幹細胞マーカーの1つであり、幹細胞がゆっくりと分裂するために **EGF** からのシグナルを阻害しています。2つ目は、**Epf**n は細胞増殖に必要な **CyclinD/CDK4** 複合体に結合し、**Rb** 蛋白のリン酸化を促進させます。**Rb** 蛋白をリン酸化することで、増殖に必要な遺伝子の発現に必要な転写因子 **E2F** を活性化させ、細胞周期<sup>注4</sup>が制止期 (G) から増殖期 (S) に移行し細胞が分裂します。この場合 **Epf**n は、転写因子ではなく細胞質で細胞周期調節因子として働いていることを見いだしました。この **Epf**n の増殖促進活性は、**Epf**n の発現量が少ないときに高まります。このような過程を経て TA 細胞ができあがります。次に G1 期から S 期に推移した細胞内で **Epf**n は、今度は核に移動し、次の細胞周期において **Epf**n の発現量が多くなり、**E2F1** と結合し、その転写因子としての働きを阻害します。**E2F1** の活性が抑えられた細胞は、細胞周期の逸脱、いわゆる **cell cycle exit** の状態になり、細胞増殖は停止し細胞分化が進行していきます。この段階になると **Epf**n は転写因子として働き、分化誘

導分子である Notch1 の発現を誘導し、角化細胞の成熟へ導きます。

このような一連の Efn の機能の発見は、Efn 遺伝子欠損マウスの歯の表現型の解析がきっかけとなりました。Efn 遺伝子欠損マウスの歯の上皮細胞も角化細胞と同様に pre-TA 細胞がたくさん蓄積していました。マウスは生涯を通じて切歯が伸びていくために、上皮細胞のそばに間葉系の幹細胞も存在しています。

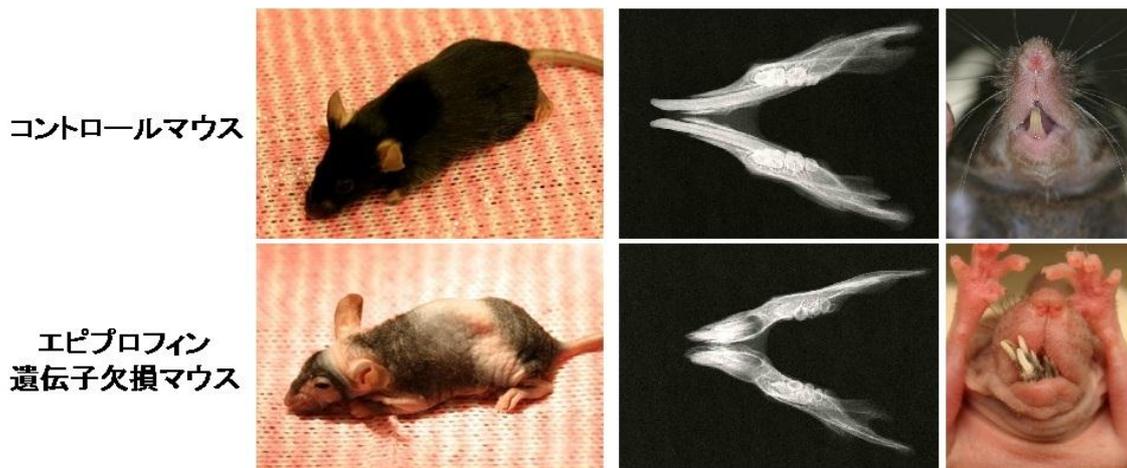


図2 エピプロフィン遺伝子欠損マウス

ノックアウトマウスでは毛の発生が阻害されるためヌードマウスの様に毛がない場所がある。またコントロールマウスでは2本の切歯、3本の臼歯が形成されるが、エピプロフィン遺伝子欠損によって、切歯、臼歯とも複数の歯が形成されている。

Efn 遺伝子欠損マウスは、蓄積した未分化な pre-TA 細胞が間葉細胞との相互作用を断続的に行い、実に 50 本近い切歯を形成しました(図 2)。

このように上皮細胞が Efn という一つの分子で増殖、分化、成熟を制御しているのには理由があると考えています。健康な表皮を形成するには、常に幹細胞の TA 細胞のバランスを一定に保たなければいけません。このバランスが破綻してしまうと病的な状態に陥ってしまいます。癌の場合は、TA 細胞の産生が優位になり、さらに細胞周期逸脱が起こらず、TA 細胞の細胞分裂の規定が崩壊した状態と考えられます。

### 【今後の展開】

上皮系器官のなかで、歯や毛の再生が試みられています。これらの成果により、近年マウスサイズの歯や毛の再生に成功しています。より大きなヒトサイズの上皮系器官の再生には、より多くの未分化な上皮細胞の準備が必要不可欠となり、特に幹細胞から TA 細胞の誘導、さらには TA 細胞からより成熟した細

胞への分化過程を制御する必要があります。Epfn の発現制御により、正常な上皮細胞の大量調整法の開発が可能となるとともに、これらの技術を応用した歯や毛、さらには他の上皮組織の再生が可能になるものと期待されます。また、さらに Epfn により制御されている幹細胞および TA 細胞の増殖機構の破綻が、癌等の腫瘍性疾患の発症にも関与していることが予想され、新たな癌抑制法の開発にも応用可能な知見と考えられます。

## 【用語説明】

### 注1 転写因子

転写因子は遺伝子のプロモーター領域に結合し、遺伝子の転写に必要なタンパク質である。生体現象に必要なタンパク質はゲノム DNA 上に書き込まれた遺伝情報を読み取り転写されメッセンジャーRNA が作られる。メッセンジャーRNA を翻訳することによりタンパク質が合成されていく。タンパク質に翻訳されるべきコードが書かれているゲノム DNA 上の特定領域を遺伝子と呼び、その遺伝子の読み取り開始点が記された領域はプロモーターと呼ばれている。転写因子自身もタンパク質であるが、遺伝子のプロモーター領域に結合して、特定の遺伝子のメッセンジャーRNA の転写を制御する働きがある。

### 注2 自己複製器官

皮膚、毛、爪、消化管上皮など多くの組織には幹細胞を維持するニッチと呼ばれる構造が存在する。幹細胞から生まれた前駆細胞（TA 細胞）が、組織を構成するすべての細胞型への分化能を有する。特に毛根に存在する毛の TA 細胞は、我々の体で最も高い細胞増殖活性を有する。悪性腫瘍の抗がん剤の副作用で毛が抜け落ちてしまうのは、このためである。

### 注3 エピプロフィン(Epfn)

基本転写因子である SP/KLF ファミリーに属する。カルボキシル基側に3つ zinc-finger モチーフが存在し、ゲノム DNA との結合に関係していると考えられている。アミノ基側は、他のタンパク質と相互作用するモチーフが存在していることが予想されている。SP/KLF ファミリーには、ユビキタスに発現する転写因子と組織特異的に発現する転写因子に体分される。Osterix/Sp7 もこのファミリーに属し、骨芽細胞分化に必須のマスター遺伝子として同定されている。また、iPS 細胞の作成に関わる4つの中山ファクターの一つの KLF4 も同じファミリーとなる。Epfn は歯の cDNA マイクロアレーを用いて発生歯胚に強く発現している分子として同定された (Nakamura et al. 2004 JBC)。Epfn 遺伝子欠損マウスでは、過剰歯形成、エナメル欠損、毛根形成阻害、上皮肥厚などの表現型を呈する。特に歯の発生過程ではエナメル質形成に必要なエ

ナメル芽細胞に強く発現し E<sub>pf</sub>n 遺伝子欠損マウスでは、エナメル芽細胞分化が完全に阻害されるため、エナメル芽細胞のマスター遺伝子と考えられている。

#### 注 4 細胞周期

細胞周期 (cell cycle) とは、1 つの細胞が分裂し、細胞分裂によって生み出された娘細胞が次に分裂するまでの 1 周期のこと。細胞周期には、活動を休止 (分裂を停止) している G<sub>0</sub> 期、次の細胞周期に入るかどうかを決める準備段階の G<sub>1</sub> 期、細胞分裂に備えて DNA を複製する S 期、細胞分裂の準備をする G<sub>2</sub> 期、細胞が分裂する M 期という、4 つのフェーズがある。

\*本研究の成果は、独立行政法人に文部科学省科学研究費補助金「歯の発生における歯数制御機構の解明と再生医療への応用」（研究代表者：中村卓史 東北大学大学院歯学研究科准教授）および最先端・次世代研究開発支援プログラム「かたちに関わる疾患解明を目指した歯の形態形成メカニズムの理解とその制御法の開発」（研究代表者：福本敏 東北大学大学院歯学研究科教授）によるものです。

論文題目

**Epiprofin orchestrates epidermal keratinocyte proliferation and differentiation**

Takashi Nakamura, Yasuo Yoshitomi, Kiyoshi Sakai, Vyomesh Patel, Satoshi Fukumoto, and Yoshihiko Yamada

J Cell Sci. 2014 Oct 24. pii: jcs.156778.

【お問い合わせ先】

東北大学大学院歯学研究科小児発達歯科学分野

教授 福本 敏(ふくもと さとし)、電話番号:022-717-8380

Eメール: fukumoto@dent. tohoku. ac. jp

東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリエゾンセンター

准教授 中村卓史(なかむら たかし)、電話番号:022-717-8382

Eメール:taka@dent. tohoku. ac. jp