



Title	17型コラーゲンは毛包間表皮の増殖を制御する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	渡邊, 美佳
Description	配架番号 : 2353
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12939号
Issue Date	2017-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/68366
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mika_Watanabe_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 渡 邊 美 佳

学 位 論 文 題 名

17 型コラーゲンは毛包間表皮の増殖を制御する
(The role of Type XVII collagen in the interfollicular epidermis)

【背景】皮膚は、表皮・真皮・脂肪組織の3層で構成される。このうち最外層に位置する表皮は外界とのバリアを直接担っており、表皮の厚さは皮膚のバリア機能に影響するが、表皮の厚さを決定するメカニズムは未解明であった。また、個体の老化において真皮が菲薄化することは一般的に知られているが、老化によって表皮がどのように変化するか不明であった。今回我々が着目する17型コラーゲン（以下COL17）は、表皮と真皮を接着する基底膜の構成タンパクの一つであり、ヒト・マウスのCOL17欠損で白髪や脱毛という早老化の表現型を呈することから、毛包幹細胞の維持にCOL17が関与していると知られていた。このためCOL17が毛のない皮膚の表皮においても、表皮幹細胞維持を担っていると想定されていたが、これまで解明されていなかった。

【目的】表皮恒常性維持におけるCOL17の役割を解明する。

【対象と方法】生後1日齢・4日齢・10日齢・20日齢・3ヶ月齢のCOL17欠損マウス（以下COL17KOマウス）における表皮の厚さと増殖能、表皮増殖に影響しているシグナル分子を染色・qRT-PCR等を用いて解析した。COL17と表皮増殖に関連しているWntシグナルの関連性を、Wntシグナルを可視化するTOPGALマウスとCOL17KOマウスの交配マウス及び表皮特異的にWntシグナルが抑制されているK14-deltaNLeF1マウス、Wntシグナルを定量化できる293STF細胞を用いて検証した。また、ヒトCOL17（以下hCOL17）を表皮特異的に強制発現させた（以下K14-hCOL17Tg）マウスとCOL17KOマウスを交配させるトランスジェニックレスキュー実験で、COL17KOマウスの表現型に変化が起きるか観察した。一方、1歳7ヶ月以上の加齢野生型マウス及び6週～10週齢の若年野生型マウスの表皮の厚さと増殖能、COL17の分布について解析した。また加齢野生型マウスと加齢K14-hCOL17Tgマウスを比較し、上記表現型がhCOL17の導入で変化するかを観察した。

【結果】生後1日齢（以下Postnatal day1;P1）のCOL17KOマウスは、対照群と比較して、表皮肥厚と増殖能亢進を呈した。COL17KOマウス表皮の増殖亢進は一過性のものであり、生後20日齢では対照群の表皮と同等になった。網羅的遺伝子解析によって、COL17KOマウス発達段階において一過性にみられる表皮増殖に、Wntシグナルの不活化が関与していると示唆された。網羅的遺伝子解析の結果を支持する所見として、COL17KOマウスP1の表皮で、Wntシグナル関連遺伝子LEF1の表皮基底細胞における発現の減弱と、 β -cateninの発現の低下も観察された。293STF細胞を用いた培養細胞の実験系において、COL17の強制発現はWntシグナルを増強した。Wntシグナルを可視化するTOPGALマウスとCOL17KOマウスの交配で得られたマウスの観察によって、COL17KOマウスP1の表皮におけるWntシグナルの減弱が確認された。また、Wntシグナルが阻害されているK14-deltaNLeF1マウスや、Wnt阻害剤を投与された野生型マウスにおいて、P1の表皮増殖の亢進が観察された。さらに、こ

の COL17K0 マウスに対する hCOL17 のトランスジェニックレスキューにより、COL17K0 マウス P1 の表皮における表現型が消失した。以上から、COL17 は Wnt シグナルを安定化し、新生仔表皮が過増殖に至らないように制御していることが判明した。

次に、加齢・若年それぞれの野生型マウスの表皮の増殖能を比較した。若年マウスと比較して、加齢マウスは表皮肥厚と増殖能の亢進を呈した。加齢マウス表皮では、多くの表皮基底膜分子の遺伝子発現は減少していたが、COL17 の遺伝子発現には変化がなかった。しかしながら、通常若年表皮では COL17 が表皮基底細胞を取り囲むような形で分布しているが、加齢に伴い基底細胞の側面と上方の COL17 が消失することを見出した。また、加齢・若年マウス表皮を比較すると、加齢マウス表皮において細胞極性が変化して非対称性分裂が増加していた。若年マウス表皮及び三次元再構成ヒト表皮を細胞極性因子 atypical PKC の阻害剤で処理すると、加齢表皮と同様に基底細胞の側面上方の COL17 が消失した。最後に K14-hCOL17Tg 加齢マウスを観察したところ、このマウスでは加齢野生型マウスと比較して表皮肥厚・細胞増殖が抑えられ、基底細胞側面と上方の COL17 の発現も回復していた。以上から、加齢によって表皮の細胞極性が乱れ、COL17 の分布パターンが変化することで表皮は過増殖に向かうと明らかになった。

【考察】COL17 をはじめとする表皮基底膜タンパクは、表皮恒常性の維持において重要な役割を担っている。これまでの研究成果で、COL17 が毛包幹細胞と色素幹細胞のニッチとなり、それぞれの幹細胞を維持していることは示されていたが、表皮における役割は不明であった。今回我々は、増殖という観点において、COL17 が表皮の恒常性維持に関与していることを示した。新生仔期の COL17 欠損は Wnt シグナルの減弱を介して一過性の表皮の増殖を引き起こした。一方、加齢によって表皮は非対称分裂へと傾き、これによって COL17 の分布の変化と表皮の過増殖を示した。また、COL17 の表皮への導入により、加齢表皮の増殖が抑制された。

Wnt シグナルは皮膚の発達や毛を含めた皮膚の恒常性維持に非常に重要な分子群である。Wnt シグナル関連遺伝子の変異は皮膚において、表皮の増殖・分化に関わる様々な表現形を引き起こす。本研究においては COL17 が Wnt シグナルを安定化させていることを明らかにしたが、実際に両者の間でどのように相互作用があるのかはさらなる解明が必要である。

組織の恒常性維持には幹細胞が重要であるが、この幹細胞がどのように制御されているのかは様々な議論があり、それぞれの組織の部位にも依存することが知られている。表皮においては多くの表皮基底細胞が幹細胞ではなく、前駆細胞として存在する可能性が示唆されている。本研究の結果は、表皮の発達段階で COL17 が欠損すると幹細胞よりも前駆細胞が増加するために、表皮が一時的に増殖へと向かうことを示唆している。また、これと同様に、表皮は加齢にともなって幹細胞よりも前駆細胞へと傾き、これによって COL17 分布の変化をとまなう細胞極性の乱れと表皮の増殖へとつながっている。細胞極性因子 atypical PKC の表皮特異的欠損マウスが、COL17K0 マウスと類似した早老化の表現型を示すことは、本研究の結果を裏付けるものである。また、COL17 の表皮への導入によって加齢マウスの表現型が抑制されるという点から、抗加齢医学の標的として COL17 を位置づけることができる。

【結論】COL17 は若年期・老年期表皮において、それぞれ Wnt シグナル、細胞極性因子を通して表皮増殖を制御している。