

[039]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2024年

<https://doi.org/10.15017/7431318>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 39, pp.1-, 2025. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :



細胞機能制御学部門
Department of Molecular and Cellular Biology

器官発生再生学分野

Division of Organogenesis and Regeneration

教授：鈴木 淳史

Professor : Atsushi Suzuki, Ph.D.

器官発生再生学分野では、哺乳動物の「発生」や「再生」と「疾患」について、幹細胞の性状理解と機能制御を中心に研究を展開している。特に、代謝や解毒の中樞器官である肝臓の発生メカニズムや損傷後の再生メカニズム、幹細胞の機能破綻による疾患の発症メカニズムの解明に向け、遺伝子、細胞、組織、器官、個体レベルの実験を通じて多角的に研究を行っている。そして、得られる知見から「肝臓」という器官を統合的に理解し、肝疾患に対する革新的な治療法の開発へとつなげていく。

2024年度においては、鈴木淳史（教授）、堀澤健一（准教授）、川又理樹（助教）、三浦静（同）、唐澤皐月（大学院医学系学府・博士）、坂口嘉彬（同（成長発達医学・小児科）・博士）、何其磊（同・博士）、鈴木陵雅（同・博士）、冉婧茹（同・博士）、谷口純彬（同（麻酔科蘇生科）・博士）、前田翔平（同（小児外科）・博士）、舒景浩（同・博士）、甲斐薫（同・修士）、高橋華倫（同・修士）、ラムズリー（同・修士）、井原麻理子（同・修士）、羅一強（同・修士）、佐野優衣（医学部生命科学科・4年生）、岩崎良美（テクニカルスタッフ）、藏田光洋（同）、甲斐卷奈（事務補佐員）の計21名で研究を開始し、2024年7月から本田結城（テクニカルスタッフ）が、同年10月から朱樂樂（研究生）が研究室に加わった。2022年3月をもって単位修得退学した村山僚（福岡大学医学部放射線医学教室・助教）は、その後も引き続き共同研究者として研究に参画し、2025年3月に博士（医学）の学位を取得した。甲斐薫、高橋華倫、ラムズリーは2025年3月に修士号を取得し、同年4月よりそれぞれ株式会社ツムラ、株式会社メニコン、株式会社エア・ウォーターに就職することが内定した。佐野優衣は、2025年4月より熊本大学大学院生命科学研究部老化・健康長寿学講座（修士課程）に進学することが決定した。朱樂樂は、2025年4月より九州大学大学院医学系学府医学専攻（博士課程）（当研究室所属）に進学することが決定した。三浦静は、2025年4月より九州大学生体防御医学研究所幹細胞医学分野（新設）の独立准教授に就任することが決定した。甲斐卷奈は2025年3月をもって退職した。

A. ダイレクトリプログラミングによるマウス肝細胞の直接誘導

肝細胞は多くの転写因子の働きによって胎生期に肝前駆細胞から分化するのが普通だが、まれに、障害を受けた膵臓の外分泌細胞や骨髄などに含まれる間葉系幹細胞から肝細胞が分化することがある。また、骨髄移植後に血液細胞が肝細胞と融合し、肝細胞として肝臓組織を構築することもある。これらの事象は、肝細胞以外の細胞を肝

細胞に変化させる因子の存在を示唆しており、ある環境下ではそれらの因子が活性化して肝細胞以外の細胞を肝細胞に変化させていると考えられる。したがって、もし、このような肝細胞の運命決定因子を同定することができれば、それらを使って皮膚の線維芽細胞を直接肝細胞へ変化させることが可能になるかもしれない。そこで我々は、肝細胞の運命決定を担う特定因子を同定し、マウスの線維芽細胞から肝細胞を直接作り出すことを試みた。その結果、線維芽細胞に Hnf4 α と Foxa (Foxa1, Foxa2, Foxa3 のいずれかひとつ) という肝細胞分化に関連した 2 種類の転写因子を導入することで、線維芽細胞を肝細胞の性質を有する「誘導肝細胞 (iHepC)」へ変化させることに成功し、肝細胞の運命決定因子を同定した (Sekiya and Suzuki, *Nature*, 2011)。作製した iHepC は肝細胞の形態的特徴や遺伝子・タンパク質発現を有し、肝細胞特有の機能をもったまま培養下での増殖や維持、凍結保存が可能であった。また、iHepC は肝細胞と同様に中性脂肪の合成や蓄積と分泌が可能であり、既知の脂肪酸合成阻害薬にも反応することができた (Miura and Suzuki, *Front. Cell Dev. Biol.*, 2014)。さらに、肝機能不全で死に至る高チロシン血症モデルマウスの肝臓へ iHepC を移植すると、肝細胞として障害を受けた肝臓組織を機能的に再構築し、マウスの致死率を大幅に減少させることが可能であった。本法では、わずか 2 種類の転写因子を線維芽細胞に発現させるだけで、人工多能性幹細胞 (iPSC) を経由することなく、直接、線維芽細胞から短時間で肝細胞を作製可能なことから、移植医療や創薬研究、バイオ人工肝臓の開発などへの応用が期待される (Miura and Suzuki, *Inflamm. Regen.*, 2014; Suzuki, *Inflamm. Regen.*, 2014; Horisawa and Suzuki, *Innovative Medicine: Basic Research and Development*, Springer Japan, 2015; Kawamata and Suzuki *J. Biochem.*, 2017; Horisawa and Suzuki, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B*, 2020)。

上述したように、iHepC は医療・創薬への応用が強く期待される細胞だが、その機能レベルが生体の肝細胞よりも低いことが問題であった。そこで次に、iHepC をより高機能な肝細胞へと成熟させるために研究を進めた。その結果、細胞凝集塊形成による Hippo シグナルの活性化、並びに Hnf1 α を筆頭とする肝細胞分化関連転写因子の活性化が、iHepC の成熟化を強く促進することを見出した (Yamamoto et al., *Cell Rep.*, 2018)。また、iHepC の発展的研究として、肝細胞へのダイレクトリプログラミング技術ががん治療に応用できないかと考え、これまでの研究で重要性が明らかになった肝細胞分化誘導因子セット (HNF4A, FOXA3, HNF1A) をヒトの肝がん細胞に導入した。その結果、肝がん細胞の長期的な増殖阻害やがん形質の消失、並びに肝細胞分化マーカーの発現上昇が認められた (Takashima et al., *Cancer Sci.*, 2018)。このことから、ダイレクトリプログラミング技術を利用した肝がん細胞の肝細胞化が、肝がんの治療や制御に有効であることが示唆された。

線維芽細胞から iHepC へのダイレクトリプログラミングは、誘導因子の導入後、迅

速かつ劇的に進行するが、その分子メカニズムは不明であった。そこで我々は、iHepC へのダイレクトリプログラミングを誘導する転写因子の挙動を詳しく解析するとともに、線維芽細胞が肝細胞の運命を獲得する過程で生じる遺伝子発現変化やクロマチン状態変化、エピゲノム状態変化などを統合的に解析し、iHepC 誘導メカニズムの解明を試みた。その結果、導入した転写因子の DNA 結合から始まる一連のダイナミックな細胞状態変化の全容を解明し、さらに Foxa 転写因子ファミリーの作用機序の違いについて興味深いデータを得ることができた (Horisawa et al., *Mol. Cell*, 2020)。iHepC 誘導因子の 1 つである Foxa3 は、同じファミリーに属する Foxa1 や Foxa2 と同じくパイオニア因子として転写開始点遠位に結合しクロマチン構造を開くが、Foxa3 はその後速やかに転写開始点近位に転位して RNA ポリメラーゼ II や Hnf4 α と結合し、それらと一緒に DNA 上を動くことで標的遺伝子の転写を活性化することが判明した。この特徴的な Foxa3 の作用機序は、Hnf4 α と Foxa3 を用いた iHepC 誘導に必須であることも判明した。RNA ポリメラーゼ II と転写因子の機能的な結合は他の転写因子でも起こりうることから、細胞運命制御に関わる転写因子の新しい機能として、今後の研究の発展が期待される。この研究で明らかとなった iHepC の誘導メカニズムは、iHepC の質の向上や安全性の担保など、iHepC の医療応用において重要な知見になるだけでなく、肝細胞の分化機序やその破綻による病気の発症機構の解明にもつながると考えられる。

B. ダイレクトリプログラミングによるヒト肝前駆細胞の直接誘導

我々は、マウスの線維芽細胞に 2 種類の転写因子を発現させることで、iHepC へのダイレクトリプログラミングを誘導することに成功した (Sekiya and Suzuki, *Nature*, 2011)。iHepC の誘導技術は、将来、肝疾患治療への応用が期待されることから、マウス iHepC に続き、ヒト iHepC の作製を試みた。しかし、作製されたヒト iHepC は増殖能が低く、大量の細胞を必要とする細胞移植医療や創薬研究に応用することは難しいと考えられた。この問題に対し、我々は、増殖できない肝細胞ではなく、高い増殖能と分化能を有する肝前駆細胞をダイレクトリプログラミングの手法によって作り出せないか考えた。この考えに基づき転写因子の組み合わせを再検討した結果、最終的に 3 種類の転写因子 (FOXA3, HNF1A, HNF6) をヒトの臍帯静脈や末梢血由来の血管内皮細胞に導入することで、長期培養による安定的な増殖が可能な「誘導肝前駆細胞 (iHepPC)」を作製することに成功した (Inada et al., *Nat. Commun.*, 2020)。作製されたヒト iHepPC は三次元培養下で肝・胆管組織様構造体を形成し、それぞれ機能的な肝細胞と胆管上皮細胞へ分化・成熟する能力をもっていた。また、ヒト iHepPC から分化した肝細胞を致死率の高い急性肝不全モデルマウス (生存率 2 割) の肝臓へ移植したところ、マウス肝臓内でヒト肝実質組織を再構築して機能し、高い救命効果 (生存率 8 割) を発揮することも判明した。ヒト iHepPC から機能的に成熟した肝細胞や胆

管上皮細胞を大量に調達できることから、将来、それらを用いた肝疾患患者に対する新しい移植医療の実現や、個人レベルで薬剤の効果や毒性を評価できる医療システムの構築が期待される。

C. ダイレクトリプログラミングによるマウス及びヒト腸前駆細胞の直接誘導

食物の消化や吸収を担う小腸や大腸は、胎児期の腸管を形成する腸前駆細胞が成体型の腸幹細胞へと成長することによって形成される。これら胎児性の腸前駆細胞や成体型の腸幹細胞は、三次元培養下において生体内の腸上皮組織を模倣した三次元組織構造体（オルガノイド）を形成する。腸上皮オルガノイドは、生体外で腸上皮組織を維持・培養できることから、基礎研究だけでなく、移植医療や創薬研究での利用も期待されている。しかしながら、材料となる腸組織を生体から生きたまま取り出すことは患者への負担が大きく、また、多能性幹細胞から分化誘導する場合には複雑な方法が必要になるため、腸上皮オルガノイドを医療や創薬に応用するためには、腸上皮オルガノイドの新たな供給源の確保が望まれる。そこで我々は、細胞の運命を人為的に変化させる「ダイレクトリプログラミング」の手法を用いて、胎児性の腸前駆細胞や成体型の腸幹細胞、並びにそれらが作る腸上皮オルガノイドを別の細胞から作製できないかと考えた。上述した iHepC の作製法を基盤として研究を進めた結果、マウスの皮膚やヒトの血管の細胞に 4 つの転写因子（Hnf4 α , Foxa3, Gata6, Cdx2）を導入することで、これらの細胞を直接、胎児性の「誘導腸前駆細胞（iFIPC）」へ変化させることに成功した（Miura and Suzuki, *Cell Stem Cell*, 2017）。作製した iFIPC は、三次元培養下で腸上皮オルガノイドを形成し、増殖することが可能であった。また、マウス iFIPC が作る腸上皮オルガノイドは、培養条件を変えることで、成体型の「誘導腸幹細胞（iISC）」が作る腸上皮オルガノイドへと成長した。得られた iISC は、腸上皮組織を構成するすべての細胞へ分化する能力（多分化能）と長期間自己と同じ細胞を作り続ける能力（自己複製能）を有していた。また、誘導した iFIPC や iISC が作る腸上皮オルガノイドを大腸炎モデルマウスに移植すると、長期間、腸上皮組織を再構築することが可能であった。さらに、ダイレクトリプログラミングの結果、iISC が腸上皮組織由来の腸幹細胞（ISC）に極めて近い全ゲノムレベルの DNA メチル化状態を獲得することも判明した（Horisawa et al., *Sci. Rep.*, 2023）。ダイレクトリプログラミングの手法によって作製される iFIPC や iISC を用いることで、既存の方法に対し、より簡便かつ効率的に腸上皮オルガノイドを取得できることから、今後、作製した腸上皮オルガノイドを用いた腸疾患の病態解析や再生医療、創薬研究への展開が期待される（Miura and Suzuki, *Develop. Growth Differ.*, 2018; Miura and Suzuki, *Methods Mol. Biol.*, 2020）。

D. 肝細胞が上皮細胞と間葉系細胞のハイブリッド状態を経て腸上皮細胞に分化することを発見

肝細胞は肝臓で重要な役割を担っているが、それらを単離して培養するとすぐに機能を失い、肝前駆細胞様の細胞へ脱分化する。このユニークな特徴は40年以上も前から知られているが、「脱分化」とは一体どういう状態なのか、そしてそのメカニズムや脱分化した肝細胞の特性はどういったものなのか、という疑問に対する明確な答えは得られていない。そこで我々は、これまでの研究で確立した肝前駆細胞用の培養系を用いて成体マウスの肝細胞を培養し、肝細胞脱分化の動態やメカニズム、並びに肝細胞から脱分化した細胞の分化能について検証を行った (Miura et al., *Nat. Commun.*, 2024)。肝前駆細胞用の培養系を用いて成体マウス肝細胞を培養した結果、それらが高い増殖能を有する肝前駆細胞様の細胞へと脱分化することが判明した。「dediHep (dedifferentiated hepatocyte)」と名付けたこれら脱分化型肝細胞は、単層培養下において上皮細胞と間葉系細胞のハイブリッド状態を呈しており、この状態への脱分化誘導と脱分化状態の維持が Hippo シグナル伝達経路の阻害に依存し、TGF- β シグナル伝達経路の活性化には依存しないことが明らかとなった。dediHep は、単層培養下で間葉系細胞マーカーであるビメンチンの発現に依存して未熟な状態のまま安定的に増殖するが、三次元浮遊培養下では凝集体を形成して増殖を停止し、成熟肝細胞の機能特性を再獲得することが判明した。また、dediHep から再分化した肝細胞を高チロシン血症1型モデルマウスの肝臓へ移植すると、肝臓組織を長期にわたり再構築することが可能であった。

dediHep が上皮細胞と間葉系細胞のハイブリッド状態という特殊な表現型を有することから、次に我々は、dediHep が肝臓以外の内胚葉由来臓器の細胞にも分化できるのではないかと考え、その検証を行った。すると、単層培養下にある dediHep の90%以上が、腸上皮細胞の分化に必須の転写因子である Cdx2 を発現していることが判明した。そこで、胎生期腸前駆細胞の培養条件 (三次元マトリゲル培養) で dediHep を培養してみた。その結果、生体由来の腸前駆細胞と同様に、dediHep が一層の上皮細胞から成る球形のオルガノイドを形成し、そのオルガノイドが長期間安定的に増殖可能なことが判明した。さらに、これら dediHep 由来の腸上皮オルガノイドを大腸炎モデルマウスの大腸へ移植すると、大腸上皮組織を長期間、機能的に再構築することが可能であった。

このように、dediHep は胎生期腸前駆細胞への分化能を有することが判明したが、その一方で、生体由来の胎生期腸前駆細胞とは異なり、成体型の腸幹細胞まで成長することはできなかった。上述したように、我々は以前の研究でマウスの線維芽細胞を胎生期腸前駆細胞へ直接的に変化させるダイレクトリプログラミングの方法を開発した

が、その際に作製された胎生期腸前駆細胞は成体型腸幹細胞まで成長することが可能であった。ダイレクトリプログラミングの誘導には Cdx2 の過剰発現が必要なことから、dediHep 由来胎生期腸前駆細胞を成体型腸幹細胞まで成長させるためには、同様に Cdx2 の過剰発現が必要なのではないかと考えた。そこで、dediHep に対して Cdx2 の過剰発現を行った。その結果、dediHep 由来胎生期腸前駆細胞は、成体型腸幹細胞が形成する、複数の突起を持った特殊な形状のオルガノイドを形成し、腸上皮組織を構成する吸収上皮細胞、杯細胞、パネート細胞、腸内分泌細胞への多分化能を有することが判明した。

成体マウスの肝細胞が有するこの驚くべき可塑性の発見は、肝臓の全容を理解するための「肝臓学」の発展に貢献するだけでなく、腸上皮化生などの関連疾患の研究や治療に役立つことが期待される。

業績目録

原著論文

1. Yamamoto T., Hayashida T., Masugi Y., Oshikawa K., Hayakawa N., Itoh M., Nishime C., Suzuki M., Nagayama A., Kawai Y., Hishiki T., Matsuura T., Naito Y., Kubo A., Yamamoto A., Yoshioka Y., Kurahori T., Nagasaka M., Takizawa M., Takano N., Kawakami K., Sakamoto M., Wakui M., Yamamoto T., Kitagawa Y., Kabe Y., Horisawa K., Suzuki A., Matsumoto M., Suematsu M. (Apr 2024)
PRMT1 sustains de novo fatty acid synthesis by methylating PHGDH to drive chemoresistance in triple-negative breast cancer.
Cancer Research 84:1065-1083.
2. Miura S., Horisawa K., Iwamori T., Tsujino S., Inoue K., Karasawa S., Yamamoto J., Ohkawa Y., Sekiya S., Suzuki A. (May 2024)
Hepatocytes differentiate into intestinal epithelial cells through a hybrid epithelial/mesenchymal cell state in culture.
Nature Communications 15:3940.

総説・著書

1. 鈴木 淳史. (2025/3/1)
肝細胞が上皮細胞と間葉系細胞のハイブリッド状態を経て腸上皮細胞に分化することを発見.
消化器病サイエンス. Vol.9, No.1.

学会発表等

1. 川又 理樹, 鈴木 淳史. (2024/6/19)
gRNAの機能拡張技術と遺伝子治療への応用. (川又：招待講演)
日本ゲノム編集学会第9回大会, 大阪.
2. 川又 理樹, 鈴木 洋, 鈴木 淳史. (2024/6/28)
ゲノム編集機能の拡張による新規遺伝子治療法の開発. (川又：招待講演)
第67回日本腎臓学会学術総会, 横浜.
3. 鈴木 淳史. (2024/7/19)
Direct Reprogramming ~Prospects for the Treatment of Liver Disease~. (招待講演)
福岡から世界を理解する・ライフサイエンスの最前線, 福岡.
4. 三浦 静, 堀澤 健一, 唐澤 皐月, 鈴木 淳史. (2024/7/27)
脱分化型肝細胞の腸上皮細胞への運命転換. (三浦：招待講演)
第31回肝細胞研究会シンポジウム「肝細胞培養系の最前線」, 東京.
5. Miura S., Horisawa K., Suzuki A. (2024/10/10)
Conversion of hepatocytes into intestinal epithelial cells. (Miura: Invited Speaker)
The 19th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences, Sendai, Japan.
6. Suzuki A. (2024/10/29)
Direct reprogramming technology and its medical prospects. (Organizer & Invited Speaker)
The 33rd Hot Spring Harbor International Symposium “Cutting-Edge Research and Technology in Stem Cells and Reprogramming”, Fukuoka, Japan.
7. 三浦 静, 堀澤 健一, 唐澤 皐月, 鈴木 淳史. (2024/11/7)
肝細胞から腸上皮細胞への運命転換. (三浦：招待講演)
第97回日本生化学会大会, 横浜.
8. 三浦 静, 堀澤 健一, 唐澤 皐月, 鈴木 淳史. (2024/11/28)
脱分化型肝細胞の腸上皮細胞への運命転換. (三浦：オーガナイザー&招待講演)
第47回日本分子生物学会年会ミニシンポジウム「幹細胞性の理解と創造」, 福岡.
9. 鈴木 淳史. (2024/11/29)
ダイレクトリプログラミング研究の進展と医療展望. (招待講演)
第47回日本分子生物学会年会シンポジウム「細胞運命変換モジュレーションを疾患生物学から捉える」, 福岡.
10. 高橋 華倫, 川又 理樹, 鈴木 淳史. (2024/11/29)
進行性骨化性線維異形成症 (FOP) 治療に向けた精密 1 塩基置換ゲノム編集技術の開発.
(ポスター発表)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡.

11. 堀澤 健一, 鈴木 淳史. (2024/11/29)
細胞運命決定におけるエピゲノム動態. (ポスター発表)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡.
12. 三浦 静, 堀澤 健一, 唐澤 皐月, 鈴木 淳史. (2025/3/20)
肝細胞から腸上皮細胞への運命転換. (一般口演)
第24回日本再生医療学会総会, 横浜.
13. 鈴木 淳史. (2025/3/22)
ダイレクトリプログラミング研究の進展と医療展望. (招待講演)
第24回日本再生医療学会総会シンポジウム「細胞運命制御による再生」, 横浜.

皮膚再生老化学分野

Division of Skin Regeneration and Aging

教授：佐田 亜衣子

Professor : Aiko Sada, Ph.D.

当分野では、皮膚をモデルとし、ステムセルバイオロジーの視点から臓器再生と老化のメカニズムの解明と制御に関する研究を進めている。不均一な皮膚幹細胞集団の維持と破綻を左右する分子基盤を明らかにし、皮膚の永続的な再生とレジリエンス維持を可能とするためのストラテジーを提案する。当分野は、遺伝子改変マウスを用いたアプローチを軸としながら、糖鎖工学やバイオエンジニアリング、オミクス解析、イメージングといった異分野の知識や技術を取り入れながら多角的に解析を行うことで、新しい知見の創出を目指す。

当分野は 2023 年 7 月に新設され、2024 年 3 月に佐田の前職の熊本大学より研究室の引っ越しを行った。2024 年度は、特定プロジェクト教員 1 名、テクニカルスタッフ 2 名、九州大学の博士学生 2 名、特別研究学生 5 名が新たに分野に参画し、総勢 13 名で研究を推進している。

A. 加齢関連炎症性皮膚疾患に対する幹細胞標的治療法の開発

超高齢化社会を迎えた現在、高齢者で好発する臓器機能障害や加齢関連疾患に対する新たな治療戦略の確立が喫緊の課題である。加齢関連炎症性皮膚疾患の一つである類天疱瘡疾患は、近年の高齢化に伴い患者数が増加し、難治化及び重症化のために治療に難渋する。現在の標準治療法であるステロイド内服は、炎症の制御や自己抗体産生の抑制に対する効果が認められる一方で、高齢者における重篤な副作用や皮膚機能低下が臨床的課題となっている。

本研究プロジェクトは、加齢や炎症によって惹起される表皮幹細胞変容が、加齢関連炎症性皮膚疾患の難治化と重症化に寄与するという仮説のもと、それを介入ポイントとすることで、免疫抑制とは異なる原理による炎症性皮膚疾患に対する新規治療法を開発することを目的として実地した。本研究の科学的基盤は、佐田が明らかにしてきた表皮幹細胞不均一性の制御機構である。健常皮膚においては、不均一な表皮幹細胞集団が組織の恒常性を維持するが、加齢や炎症によってこの幹細胞集団に不均衡が生じ、高頻度分裂な幹細胞集団が喪失することをこれまでの研究で明らかにしてきた。しかしながら加齢や炎症により表皮幹細胞集団の不均衡が起こることの機能的意義や、その制御因子を標的とした加齢関連炎症性皮膚疾患に対する治療効果は不明である。

2024 年度は、加齢や炎症に伴う表皮幹細胞集団の不均衡を抑制するメカニズムの解明を進めた。IL-1 シグナルの調整因子としてはたらく IL-1 受容体 2 型 (IL-1R2) が分

裂頻度の低い表皮幹細胞で特異的な発現を示すことに着目した。IL-1R2 は、炎症性サイトカイン IL-1a や IL-1b のデコイ受容体として機能し、リガンドと結合するがシグナル伝達領域を欠くため、IL-1 シグナルを競合的に阻害する。IL-1R2 は、免疫細胞だけでなく、皮膚や腸、腫瘍組織においても広く発現し、生体が備える炎症応答の調整機構であると考えられるが、その生理機能については不明な点が多かった。IL-1R2 欠損・過剰発現マウスを独自に作出し、IL-1R2 を誘導すると炎症応答が減衰し、表皮幹細胞集団バランスを回復する機能を持つ可能性を見出した。さらに恒常状態において表皮幹細胞の分裂不均一性を制御する Wnt シグナルの活性化によって炎症に伴う幹細胞の不均衡が抑制される可能性が示唆された。最後に、類天疱瘡疾患マウスモデルの確立およびヒト加齢関連炎症性皮膚疾患サンプルを用いた表皮幹細胞発現解析を行い、臨床応用へ向けた基盤を構築した。

以上、本研究では、高齢者でより高率に発症し、難治化及び重症化する炎症性皮膚疾患に対して、表皮幹細胞を標的とした再生医療の発想に基づいた疾患制御を目指す。表皮幹細胞は免疫系の病的なクロストークを介した疾患の発症や進展に関与するのみならず、表皮組織のリモデリングを促進することで皮膚バリア再生効果を持つ。このように表皮幹細胞を標的とすることで既存治療であるステロイド内服による免疫抑制とは異なる新しい角度から疾患治療標的の創出が期待される。

B. 組織の凹凸を保持した三次元皮膚モデルの開発

1980 年代、ヒト表皮幹細胞の体外培養と自家移植による熱傷治療が世界で初めて成功して以来、皮膚に関する再生医療は大きく発展してきた。2017 年には、遺伝性難病である表皮水疱症患者に対し、遺伝子導入幹細胞を含む表皮シートを移植することで、全身の約 8 割以上の皮膚再生に成功したことが報告された。しかし、臨床的な有用性が示されているのは、組織の最も表層にある「表皮」の再建にとどまり、結合組織も含めた複雑な皮膚の構造を完全に再生することは技術的に困難である。現在、真皮に及ぶ皮膚欠損に対しては、培養真皮を移植後に表皮を移植する方法や、真皮と表皮を結合させた培養皮膚の移植等が試みられているが、安定した成果が得られていない。

ヒト皮膚において、表皮と真皮の境目は平坦ではなく、上皮脚と呼ばれる表皮が真皮に入り込んだ凹凸構造をとることが知られている。組織学的・病理学的観察により、上皮脚は、①表皮幹細胞の局在と関係すること、②皮膚の加齢や病変により形状が変化することが示唆されている。しかし、マウス皮膚には上皮脚が存在しないこと、表皮幹細胞マーカーが長年未同定であったことから、幹細胞制御や皮膚の機能に対する上皮脚構造の役割を実証するのは困難であった。

我々はこれまでに、新たに同定した分子マーカー (Dlx1, Slc1a3) と、分裂頻度の違いによって細胞を可視化する H2B-GFP tet-off システムを用い、マウス表皮では、分

裂頻度の低い細胞と高い細胞が2種類の独立した幹細胞として働くことを見出した。さらに、マウスで唯一上皮脚を持つ組織である口腔粘膜上皮に着目し、*in vivo*において組織構造、幹細胞局在・挙動を解析したところ、分裂頻度の異なる2種類の上皮幹細胞が、組織の凹凸構造と対応し、規則的かつ領域化した局在パターンを示すことを発見した (Ishikawa et al., bioRxiv). 先行研究において、PDMS上にヒト表皮幹細胞を播種すると、凹凸構造に対応し幹細胞のパターニングが起こることが報告され、幹細胞制御における力学的環境の重要性が示唆されている。しかし、PDMSはヒト皮膚や口腔において移植目的での利用は難しく、三次元組織の構築には至っていない。

そこで我々は、泉健次 (新潟大学)、水野潤教授 (国立成功大学, 台湾)、株式会社小松精機工作所、多木化学株式会社らとの共同研究により、凹凸構造を模倣した足場 (マイクロパターンゲル) を用いた三次元皮膚モデルの開発に取り組んだ。ゲル上に、ヒト初代培養表皮幹細胞を播種し、高カルシウムおよび気相液相界面培養により分化・重層化を誘導した。その結果、①平坦な足場と比べ凹凸を持った足場ではより厚みを持った表皮構造を誘導できること、さらに②凹凸の下側に高頻度分裂な細胞集団の局在の偏りが生じ、*in vivo*における不均一な局在パターンの一部を模倣できることが分かった (Ishikawa et al., bioRxiv). さらに本培養系は、高齢皮膚から単離した細胞においても三次元構造が構築できることが分かり、老化研究のプラットフォームとしての活用も期待される。今後、系の改良及び凹凸構造や剛性といった機械物性に対する表皮幹細胞の応答性を規定する分子基盤の解明を進める。

C. 糖鎖異常に起因する幹細胞老化プロセスの理解と制御

細胞表面の糖鎖は「細胞の顔」とも呼ばれるように、細胞の種類や状態によって劇的に変化することが知られる。血液型や腫瘍マーカーをはじめ、糖鎖の違いは優れたバイオマーカーとしても幅広く利用されてきた。細胞表面のタンパク質や脂質を修飾する糖鎖は、細胞間コミュニケーションやシグナル伝達、細胞外マトリクスとの接着などに関わり、発生やがん化、炎症といった多様な生命現象を司る。さらに近年、ヒト三次元皮膚モデルを用い、糖鎖関連遺伝子をゲノム編集法により欠損させ、その生理機能を調べる“Glycoskin”が開発され、皮膚における糖鎖の重要性が注目されている。しかし、生体内において、糖鎖の構造—機能—生物学的意義を結びつけた研究は少なく、未知な部分が多い。特に成体幹細胞は、組織を構成する全細胞の1パーセント以下の割合で存在するごく少数の細胞であり、微量の生体サンプルを用いた糖鎖解析は技術的に困難であった。

佐田らはこれまでに、糖鎖工学を専門とする舘野浩章 (産業技術総合研究所) との共同研究により、若年、老年マウスの皮膚から単離した表皮幹細胞を用いた網羅的な糖鎖プロファイリングを行った。舘野らが開発したレクチンアレイ法は、糖結合タン

パク質であるレクチンをスライドガラス上に固定化することで、糖鎖構造を高感度かつ迅速に検出可能とし、幹細胞の生化学的特性を理解する上での技術的な制約を克服した。この系を用い、我々は、加齢に伴い、表皮幹細胞の糖鎖修飾パターンがダイナミックに変化する「グライコームシフト」が起こることを発見した (Oinam et al., Aging Cell, 2020)。さらに、我々は高齢皮膚で見られる糖鎖を持つトランスジェニック (Tg) マウスを作出し、高マンノース型からシアル酸を含む複合型へ糖鎖修飾パターンが変化することで皮膚や表皮幹細胞の老化が加速される可能性について検討を行なった。ドキシサイクリン依存的にシアル酸の付加に働く糖転移酵素 (St6gal1)、およびマンノースの分解に働く Man1a 遺伝子を過剰発現する Tg マウスにおいては、脱毛や炎症といった皮膚老化様の表現型が認められた。Tg マウスでは表皮幹細胞において、高齢 (24 ヶ月齢) マウスで見られるような増殖低下が早期に誘導された。

糖鎖修飾の違いが生じるコアタンパク質を同定するため、マウス初代培養表皮幹細胞に、加齢に伴って発現上昇する 3 種の糖修飾酵素 (St3gal2, St6gal1, Man1a) を発現させ、高齢型の糖鎖パターンを誘導した。α2-6 シアル酸に結合する SNA を用いた免疫沈降・質量分析を行い、コアタンパク質の候補として、N 型糖鎖への結合能を持ち、表皮幹細胞制御に働くインテグリンファミリータンパク質を同定した。その他、膜タンパク質として Hepatocyte growth factor receptor (c-MET) や MUC18 (CD146) なども候補として同定され、現在機能解析を進めている。

糖鎖は、細胞表面に位置し、アクセスしやすいという利点から、創薬や診断の標的分子として注目が高まっている。糖鎖をツールとして、表皮幹細胞の老化状態を簡便に検出し、制御することが可能となれば、老化を予防し、健康長寿を目指す糸口となるとともに、より精度の高い再生医療の実現が期待される。

業績目録

原著論文

1. Ota A, Kitamura H, Sugimoto K, Ogawa M, Dohmae N, Okuno H, Takahashi K, Ikeda K, Tomita T, Matsuoka N, Matsuishi K, Inokuma T, Nagano T, Takeo M, Tsuji T. Comparative studies of hair shaft components between healthy and diseased donors. *PLoS One*. 19(5):e0301092, 2024.

著書

1. 佐田亜衣子他多数 (2024 年 10 月)
「逆転」生活からみた世界、『研究者、生活を語る』
岩波書店

学会発表等

1. 石川瑞穂, Yen Xuan Ngo, 水野潤, 泉健次, 佐田亜衣子. (2024/5/24)
Regulation of epidermal stem cell heterogeneity by the mechanical environment created by undulating structure of the skin (ポスター発表)
第 21 回幹細胞シンポジウム, 淡路
2. Aiko Sada. (2024/6/7)
Stem cell division dynamics underlying skin regeneration and aging (招待講演)
Seminar at the Mechanobiology Institute, Singapore (WEB 開催).
3. 佐田亜衣子. (2024/6/13)
私の研究の軌跡とキャリア形成 (招待講演)
埼玉県立熊谷西高校 SSH 事業, 埼玉.
4. 佐田亜衣子. (2024/6/14)
ステムセルバイオロジーの視点から紐解く皮膚老化と再生 (特別講演)
日本結合組織学会若手セミナー, つくば.
5. Wenxin Fan, Yen Xuan Ngo, Erna Raja, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada. (2024/6/15)
The roles of extracellular environment in the regulation of epidermal stem cells during skin aging (ポスター発表, YIA 受賞)
第 56 回日本結合組織学会学術大会, つくば
6. 佐田亜衣子. (2024/6/19)
Understanding the common principles of stem cell niche systems across different epithelial tissues (座長・口頭発表)
日本発生物学会第 57 回大会, 京都
7. Kaori Sugiyama, Masahiro Ando, Aiko Sada, Haruko Takeyama (2024/7/10)
Identification of label-free Raman biomarkers in human skin stem cells (ポスター発表)
ISSCR 2024, Hamburg, Germany
8. 佐田亜衣子. (2024/7/11)
ステムセルから考える皮膚の再生と老化 (招待講演)
第 2 回 Dermatology Skill Up Seminar, 岐阜.
9. Wenxin Fan, Mizuho Ishikawa, Erna Raja, Ahmed M. Hegazy, Yen Xuan Ngo, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada. (2024/8/11)
The roles of the extracellular matrix, fibulin-5, in the regulation of epidermal stem cells during skin aging. (口頭発表)
Gordon Research Conference 2024, Epithelial Stem Cells and Niches, Spain
10. 佐田 亜衣子. (2024/9/19)
研究者のウェルビーイングを阻む現状課題を乗り越えるために. (口頭発表)

- 第 83 回日本癌学会, 福岡.
11. 佐田 亜衣子. (2024/9/28)
幹細胞分裂不均一性を基軸とした皮膚レジリエンスの理解と制御. (特別講演)
第 20 回加齢皮膚医学研究会, 奈良.
 12. 佐田 亜衣子. (2024/10/5)
ステムセルバイオロジーの視点で捉える皮膚の再生と老化. (招待講演)
第 54 回日本腎臓学会西部学術大会, 姫路.
 13. Aiko Sada. (2024/10/10)
New insights into the extracellular mechanisms of stem cell impairment in aging skin (口頭発表)
第 19 回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム, 仙台
 14. Aiko Sada. (2024/10/30)
Unraveling stem cell dynamics in skin regeneration and aging (口頭発表)
第 33 回生医研国際シンポジウム, 福岡
 15. Aiko Sada. (2024/11/6)
Understanding stem cell heterogeneity in epithelia (招待講演)
Cell Research Symposium on Stem Cells and Tissue Regeneration, Haining, China.
 16. Mizuho Ishikawa, Yen Xuan Ngo, Ikuto Nishikawa, Hiroko Kato, Kenji Izumi, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada. (2024/11/6)
Defining epithelial stem cell heterogeneity by undulating structures of the skin and oral mucosa (ポスター発表)
EMBO | The Company of Biologists Workshop, 神戸
 17. Ikuto Nishikawa, Hung Manh Phung, Nguyen Thi Kim Nguyen, Ahamed M. Hegazy, Aiko Sada (2024/11/6)
Alterations in epidermal stem cell heterogeneity in response to inflammation (ポスター発表)
EMBO | The Company of Biologists Workshop, 神戸
 18. Hung Manh Phung, Nguyen Thi Kim Nguyen, Ikuto Nishikawa, Ahmed M. Hegazy, Aiko Sada (2024/11/6)
IL1R2 identifies a unique population of slow-cycling stem cells in the mouse tail epidermis (ポスター発表)
EMBO | The Company of Biologists Workshop, 神戸
 19. Thisakorn Dumrongphuttidecha, Mizuho Ishikawa, Nina Cabezas-Wallscheid, Aiko Sada
Elucidating the roles of retinoic acid signaling in the regulation of epidermal stem cell population balance in the skin (ポスター発表)
EMBO | The Company of Biologists Workshop, 神戸

20. Trisha Biswas Shanta, Nguyen Thi Kim Nguyen, Erna Raja, Lalhaba Oinam, Ahmed Gamal Kamel Habib, Hiromi Yanagisawa, Hiroaki Tateno, Aiko Sada
Elucidating the role of glycosylation in epidermal stem cell aging (ポスター発表)
EMBO | The Company of Biologists Workshop, 神戸
21. Aiko Sada. (2024/11/11)
Stem cell heterogeneity: Implications for skin inflammation and aging (口頭発表)
JP-UK International Joint Symposium, 福岡
22. 佐田 亜衣子. (2024/11/29)
Elucidating the stem cell aging process caused by glycosylation abnormalities. (シンポジウム)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡.
23. Mizuho Ishikawa, Yen Xuan Ngo, Ikuto Nishikawa, Hiroko Kato, Kenji Izumi, Hiromi Yanagisawa
Aiko Sada (2024/11/28)
組織の凹凸構造から探る上皮幹細胞不均一性の制御メカニズム (シンポジウム)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡
24. Wenxin Fan, Mizuho Ishikawa, Erna Raja, Ahmed M. Hegazy, Yen Xuan Ngo, Hiromi Yanagisawa,
Aiko Sada (2024/11/28)
The roles of the extracellular matrix, fibulin-5, in the regulation of epidermal stem cells during skin
aging (シンポジウム)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡
25. Hung Manh Phung, Ikuto Nishikawa, Nguyen Thi Kim Nguyen, Ahmed M. Hegazy, Aiko Sada
(2024/11/27)
IL1R2 maintains epidermal stem cell heterogeneity through crosstalk with niche signaling under
skin inflammation (ポスター発表)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡
26. Thisakorn Dumrongphuttidecha, Mizuho Ishikawa, Nina Cabezas-Wallscheid, Aiko Sada
(2024/11/29)
Elucidating the roles of retinoic acid signaling in the regulation of epidermal stem cell population
balance in the skin (ポスター発表)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡
27. Trisha Biswas Shanta, Nguyen Thi Kim Nguyen, Erna Raja, Lalhaba Oinam, Ahmed Gamal Kamel
Habib, Hiromi Yanagisawa, Hiroaki Tateno, Aiko Sada (2024/11/29)
Elucidating the role of glycosylation in epidermal stem cell aging (ポスター発表)
第47回日本分子生物学会年会, 福岡
28. Erna Raja, Jun Tsunozumi, Karolina Edlund, Fan Wenxin, Kenichi Kimura, Ken Natsuga, Aiko Sada,
Hiromi Yanagisawa (2024/12/6)

- Elucidating the role of anti-aging ECM Fibulin 7 in skin inflammation (ポスター発表)
日本研究皮膚科学会第49回年次学術大会・総会, 愛知
29. Aiko Sada. (2024/12/10)
Unraveling the stem cell dynamics in skin regeneration and aging. (招待講演)
International Symposium on Cell and Molecular Biology 2024, ペルー (WEB 開催).
30. 佐田 亜衣子. (2025/1/16)
マイクロパターンゲルを用いた皮膚再生老化研究. (口頭発表)
COSMEweek2025 東京, 東京
31. 佐田 亜衣子. (2025/2/7)
私の研究の軌跡. (招待講演)
研究皮膚科学会 (JSID) きさらぎ塾, 沖縄.
32. 佐田 亜衣子. (2025/2/20)
ステムセルバイオロジーの視点で理解する皮膚の老化と炎症. (招待講演)
マルホ新潟基礎研究セミナー, 新潟.
33. 佐田 亜衣子. (2025/3/1)
レチノイン酸シグナルに応答した表皮幹細胞ダイナミクス解析. (口頭発表)
第12回皮膚の会, 倉敷.
34. 佐田 亜衣子. (2025/3/20)
競争と協調の狭間で: 研究者の持続可能なキャリア戦略. (シンポジウム)
第24回日本再生医療学会総会, 横浜.