

「再生毛髪的大量調製革新技术開発」プロジェクト

プロジェクトリーダー 福田 淳二

【基本構想】

現在、毛髪の再生医療をめぐるには、主に三つの手法が提案されている。1.「毛乳頭細胞」の移植、2.「毛包原基」の移植、3.「生体外で再生した毛包」の移植である。我々は、それぞれのアプローチにおいて、独自の特許技術を開発し、それを元に実用化を目指した研究開発を進めている（図1）。

「毛乳頭細胞」の移植に至っては、間葉系細胞の機能を維持しながら細胞数を増加させる重層化培養技術を開発した。この技術で増殖させた間葉系細胞を移植することで細胞移植による毛髪再生の治療効果を向上できる可能性がある。連携企業や医療機関等と協力し、早期の実用化を目指す。

「毛包原基」の移植に至っては、上皮系細胞と間葉系細胞から毛包原基を簡便かつ大量に作製する技術を開発した。脱毛症患者の細胞を用いて、上皮系細胞と間葉系細胞の増殖培養から移植に至るまで一連の技術を開発し、高効率に毛髪再生する手法を確立する。5年後の臨床試験開始を目標に研究開発を進める。

「再生毛包」の移植に至っては、生体外でほぼ100%の効率で毛髪を再生する技術をマウス細胞で確立し、再生毛包を移植すると皮下に生着し毛周期を繰り返すことを確認した。本手法を脱毛症患者の細胞に適用し、高効率で毛髪再生できる条件の探索を行う。10年後の臨床試験開始を目標に研究開発を進める。



図1 我々が進める3つの毛髪再生アプローチ

1. 2023年度の研究目的

プロジェクト5年目となる2023年度は、以下の各項目を重点項目として研究を進めた。ただし、動物実験については、横浜国立大学動物実験専門委員会および動物実験中央研究所の承認を得て実施し、患者組織の利用については、横浜国立大学倫理委員会（人を対象とする医学系研究）の承認を得て実施した。

- (1) 毛乳頭細胞の移植による毛髪再生
- (2) 毛包原基の移植による毛髪再生
- (3) 生体外再生毛包の移植による毛髪再生

(1)に関して、毛髪再生能の高い毛乳頭細胞を調製する技術として重層化培養を開発した。また、ヒト臨床への展

開を見据え、製薬企業への技術移転を進めた。(2)に関して、毛包原基の移植に適したモデルマウスを作製した。また、毛包原基の新たな大量調製方法を開発した。(3)に関して、生体外で毛髪を再生する技術を開発し、ヒト細胞を用いて毛髪を再生する技術の確立に向けた最適化検討を行った。また、本技術を薬剤スクリーニングモデルとして利用し、オキシトシンの育毛・発毛効果について新たに見出した。

本報告書では、3つのアプローチの今年度の成果の概要を紹介する。また、(1)については、エン研究員が、(3)については、景山研究員が詳細を報告する。

2. 2023 年度の研究成果

(1) 毛乳頭細胞の移植による毛髪再生

毛乳頭細胞は、脱毛症患者の頭皮に移植することで、毛髪の再生を促す能力を持ち、毛髪再生医療の細胞ソースとして世界的に注目されている。一方で、毛乳頭細胞の増殖培養技術は確立されておらず、初代培養のみで遺伝子発現プロファイルを劇的に変化させ、毛髪再生能を失うことが課題となっていた。このような背景から、我々は毛乳頭細胞を長期間（30 日間）平面培養することで、毛髪再生能を従来技術（スフェロイド培養）よりも維持しながら、増殖培養する技術を開発した（特許第 7380998 号）。この培養法では、毛髪再生能に関連する遺伝子（ALP 遺伝子）の発現量はスフェロイド培養と比較して 2 倍以上増加しており、細胞数は 30 日間で 20 倍まで増加した。我々はこの培養法を重層化培養と名付け、実用化に向けた検討を進めている。2023 年度は、重層化培養で毛髪再生能が維持されるメカニズムの解明を進めるとともに、共同研究先となるロート製薬に対し、重層化培養の技術移転を行った。現時点で、少なくとも、2 名の企業研究員が細胞培養手法を習得し、遺伝子解析や細胞増殖数の評価で重層化培養が再現できていることを確認している。早期の実用化を目指して研究開発を進めていきたい。

(2) 毛包原基の移植による毛髪再生

“毛髪の総本数の増加”を可能とする毛髪再生医療として、毛包原基の移植技術の開発を進めている。毛包は、上皮と間葉の相互作用によって毛包原基が形成されるプロセスを経て発生する。近年、この発生過程で生じる毛包原基を生体外で人工的に再現し、これを移植することで毛髪を再生する技術が注目を集めている。我々は、生体外で毛包原基を大量作製する基盤技術を確認し（特許第 6425319 号、日本、中国、米国、欧州で成立）[1]、この毛包原基の移植による毛髪再生の実現を目指した研究開発を進めてきた [2-5]。2023 年度は、細胞増殖技術、毛包原基の作製方法、移植評価系の最適化を進めた。

細胞増殖技術に関して、毛包原基の作製には間葉系の毛乳頭細胞と上皮系の毛包上皮幹細胞を用いることを想定している。我々は、これまでに毛乳頭細胞は重層化培養（特許第 7380998 号）、毛包上皮幹細胞は三次元培養（特許第 7078925 号）[6] を開発してきた。しかし、毛包上皮幹細胞の三次元培養では、毛包原基の作製に必要な細胞数を調製するまでに、長期間の培養日数を要することが課題であった。2023 年度は、この課題を解決するために新たな培養技術を開発した。詳細は省略するが、この方法では三次元培養と比較して、10 倍以上の細胞数を得ることが可能となる。世界的にも培養技術が確立されていない毛包上皮幹細胞の新規培養法として提案できるよう、2024 年度に最適化検討を進める計画である。

毛包原基の作製方法について、バイオプリンターやマイクロ流体デバイスを用いた新たな手法についての論文を発表した [7,8]。一般的なプリンターは、インクを用いて紙に文字や絵を写している。それに対してバイオプリンターでは、インクの代わりに細胞が使われており、細胞を好きな形、好きな場所に立体的に印刷することができる。私たちは、バイオプリンターで上皮系細胞と間葉系細胞を隣り合うように印刷することで毛包原基様の構造を作製した [7]。この方法では、千個の毛包原基を 15 分以内にプリントすることができるため、毛包原基の大量作製技術となりうる。この毛包原基をマウスに移植すると、移植部から毛周期を繰り返す毛髪が再生することも確認している。また、マイクロ流体デバイスを利用した方法も提案した。微小な空間では液が混ざり合わず層流で流れるという特徴を利用して、毛包原基を作製する方法である [8]。このアプローチも千個の毛包原基を 15 分で作製でき、バイオプリンターと同様に自動的に大量調製が可能である。この方法では、バイオプリンターのような高価な装置を必要とせず、より簡便な方法である。毛包原基の作製方法によって、毛髪再生能に違いがあることも確認しており、臨床応用の際にどの手法を用いるかは今後検討する必要がある。

これまでヒト患者から作製した毛包原基を移植する際には、免疫不全マウスの皮膚に移植をしていた。免疫反応は少ないとはいえ、マウスの皮膚環境にヒト細胞を移植するため、実際の臨床を想定した実験系とは言い難い。そこで我々は、免疫不全マウスの皮膚にヒト頭皮片を移植した毛髪再生評価モデルマウスの作製を行った。NOG-hairless と SCID-hairless マウスの皮膚に約 1 mm の穴を形成し、そこに脱毛症患者から採取した頭皮片（植毛グラフト採取の際に毛根部分が欠落したもの）を移植した。移植後 1 か月程度でいずれのマウスでも皮膚が再生し、ヒト細胞核に対する免疫染色の結果から、移植部でのヒト皮膚の形成が確認された。興味深いことに、SCID-hairless マウスでは、移植 70 日頃から毛髪の再生も見られており、頭皮片に含まれていた幹細胞が毛髪を再生したと考えられる。NOG-hairless マウスでは、毛髪が再生しなかった結果を踏まえると、SCID-hairless マウスに頭皮片を移植する系が、比較的ヒト細胞を受け入れやすい系と考えられる。現在このモデルマウスに毛包原基を移植する実験を計画している。より頭皮に近い環境での移植実験で効率よく毛髪を再生できる条件を見出していきたい。

(3) 再生毛包の移植による毛髪再生

毛包原基は“毛の種”のようなものであり、皮膚という畑に移植することで毛包が再生するが、毛の再生方向（毛並み）まで制御することは難しく、ましてや移植した種から確実に毛包が再生するかは保証できない。生体外で毛包組織を再生できれば、畑に苗を移植するように、毛並みを揃えた毛髪をほぼ確実に再生することが可能となる。このようなコンセプトから、我々は生体外で毛包を再生する培養技術を開発した [9]。マウス毛包に存在する 2 種類の幹

細胞（上皮系細胞と間葉系細胞）の自己組織化プロセスに着目し、培養初期に形成する凝集体の空間配置パターンを制御することで高効率（ほぼ 100%）に成熟した毛包を再生することが可能となる。再生した毛髪は 30 日間の培養で約 5 mm の長さまで達し、この毛包を移植すると移植部で生着し、毛周期を繰り返す様子が観察された。我々は、この組織を毛包オルガノイドと名付け、ヒト細胞で毛包オルガノイドを作製する研究開発を進めてきた [10]。

2023 年度は、臨床応用に向けた研究開発として、脱毛症患者の細胞を用いて生体外で毛髪再生する培養技術の開発を進めた。詳細は割愛するが、毛包オルガノイドの作製に用いる細胞種や細胞外マトリクスの種類を最適化することで、再生する毛幹様構造の長さが伸長することを確認している。今後は、さらなる培養方法の最適化により、より成熟したヒト毛包を構築する。

また、この毛包オルガノイドを用いて、愛情ホルモン「オキシトシン」の育毛効果を見出した [11]。オキシトシンが、毛包オルガノイドの毛幹様構造を伸長させることを見出し、その作用メカニズムの一部も明らかにした。さらに、オキシトシンと類似した効果を持つ薬剤の探索も行っており、オキシトシンレセプターのアゴニストやオキシトシンレセプターを増加させる効果を持つケイヒ酸が育毛作用を有することも発見している [12]。これらの知見が脱毛症治療のための新たな薬剤の開発につながることを期待している。

文献

- [1] T. Kageyama, C. Yoshimura, D. Myasnikova, K. Kataoka, T. Nittami, S. Maruo, J. Fukuda, Spontaneous hair follicle germ (HFG) formation in vitro, enabling the large-scale production of HFGs for regenerative medicine, *Biomaterials* 154291-300. (2018)
- [2] T. Kageyama, L. Yan, A. Shimizu, S. Maruo, J. Fukuda, Preparation of hair beads and hair follicle germs for regenerative medicine, *Biomaterials* 212 55-63. (2019)
- [3] T. Kageyama, A. Nanmo, L. Yan, T. Nittami, J. Fukuda, Effects of platelet-rich plasma on in vitro hair follicle germ preparation for hair regenerative medicine, *J Biosci Bioeng* 130(6) 666-671. (2020)
- [4] T. Kageyama, Y.S. Chun, J. Fukuda, Hair follicle germs containing vascular endothelial cells for hair regenerative medicine, *Sci Rep* 11(1) 624. (2021)
- [5] R. Nakajima, Y. Tate, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, Impact of adipose-derived stem cells on engineering hair follicle germ-like tissue grafts for hair regenerative medicine, *J Biosci Bioeng* 131(6) 679-685. (2021)
- [6] S. Hirano, T. Kageyama, M. Yamanouchi, L. Yan, K. Suzuki, K. Ebisawa, K. Kasai, J. Fukuda, Expansion Culture of Hair Follicle Stem Cells through Uniform Aggregation in Microwell Array Devices, *ACS Biomater Sci Eng* 9(3) 1510-1519. (2023)
- [7] A. Nanmo, L. Yan, T. Asaba, L. Wan, T. Kageyama, J. Fukuda, Bioprinting of hair follicle germs for hair regenerative medicine, *Acta Biomater* 16550-59. (2023)
- [8] E. Sugiyama, A. Nanmo, X. Nie, S.Y. Chang, M. Hashimoto, A. Suzuki, T. Kageyama, J. Fukuda, Large-Scale Preparation of Hair Follicle Germs Using a Microfluidic Device, *ACS Biomater Sci Eng* (2024).
- [9] T. Kageyama, A. Shimizu, R. Anakama, R. Nakajima, K. Suzuki, Y. Okubo, J. Fukuda, Reprogramming of three-dimensional microenvironments for in vitro hair follicle induction, *Sci Adv* 8(42) eadd4603. (2022)
- [10] T. Kageyama, H. Miyata, J. Seo, A. Nanmo, J. Fukuda, In vitro hair follicle growth model for drug testing, *Sci Rep* 13(1) 4847. (2023)
- [11] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Effects of oxytocin on the hair growth ability of dermal papilla cells, *Sci Rep* 13(1) 15587. (2023)
- [12] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Cinnamic acid promotes elongation of hair peg-like sprouting in hair follicle organoids via oxytocin receptor activation, *Sci Rep* 14(1) 4709. (2024)

毛包オルガノイドを用いたオキシトシンの育毛効果の理解

「再生毛髪的大量調製革新技術開発」プロジェクト
景山 達斗

1. はじめに

ヘアスタイルは人の印象を大きく左右する。そのため、薄毛治療に対する需要は老若男女すべての世代において大きい。現在、脱毛症患者の多くは育毛剤や発毛剤を利用しており、早期に治療を開始すれば、脱毛の進行を抑制できるようになってきた。しかし、生殖器への副作用やほとんど有効性を示さない患者もいるなど解決すべき課題も多く、新薬開発への期待は大きい。我々は、育毛・発毛剤開発のためのスクリーニング系として、毛包オルガノイドを開発し[1]、このオルガノイド評価系を用いて新薬の候補を探索する中で、オキシトシンの育毛効果を見出した。オキシトシンは出産期や授乳期の女性から産生されるホルモンとして知られ、家族やペットとのスキンシップによっても、男女問わず、産生されるため“愛情ホルモン”とも呼ばれる。近年では、オキシトシンがストレスを緩和し精神的な安らぎを与える効果が明らかとなり、ストレス関連疾患に対する有効性も報告されてきた。ほかにも、心筋、消化器、生殖器など様々な臓器・組織の機能を向上させる効果もわかっているが、毛包とオキシトシンの関係については、ほとんど理解が進んでいない。本稿では、はじめに創薬モデルとしての毛包オルガノイドの有用性を紹介したのち、我々が見出したオキシトシンの発毛メカニズムと育毛・発毛剤への応用研究について紹介する。

2. 実験と結果

2.1. 創薬のための毛包オルガノイド

創薬開発の現場では、ハイスループットかつ正確に薬効を評価できる実験系が求められる。現在の育毛・発毛剤評価では、「実験動物を用いた発毛試験」および「ヒト毛包の器官培養」が用いられている（図1）。前者は、マウスの背部皮膚を剃刀で脱毛し、そこに薬剤を毎日塗布することで、薬による毛の成長変化を観察する方法である。経皮吸収も含めて評価できるが、マウスとヒトの種差による有効性の違いがあるため、必ずしも正確な結果が得られる訳ではない。後者は、ヒトの頭皮から毛包をくり抜き、採取した毛包に薬剤候補を振りかけて、毛の長さを測定する方法である。種差の影響がないため信頼性の高い評価が行えるが、ヒトから採取できる毛包の数に限りがあるため、大規模な薬剤スクリーニングは難しい。我々は、これらの課題を解決するために、細胞から毛包のクローン「毛包オルガノイド」を再生する技術を開発した[1]。生体外で細胞を大量に増殖させれば、毛包オルガノイドは大量に作製で

き、大規模な薬剤のスクリーニングが可能となる。毛包オルガノイドは、生体外で毛幹を伸長させるため、ヒト毛包の器官培養と同様に毛幹の長さを指標に育毛・発毛剤の有効性を評価できる。実際に、毛包オルガノイドに既存の発毛剤（ミノキシジル）を添加すると、ヒト毛包の器官培養と同様に、薬剤に反応して毛幹の伸長速度が増加する様子を確認している[2]。毛幹伸長を観察するのみで薬効を評価できる簡便性は、網羅的なスクリーニングを行う上で圧倒的メリットであり、この要素を兼ね備えた毛包オルガノイドは薄毛治療薬の開発を加速させる *in vitro* 培養モデルとして期待できる。

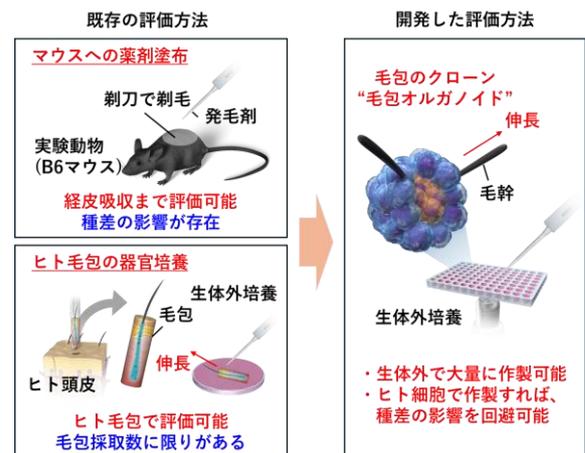


図1 既存の育毛剤の評価モデルと毛包オルガノイド

2.2. 毛包オルガノイドの作製技術

発生過程において、毛包は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プロセスを経て生みだされる。筆者らは、上皮系細胞と間葉系細胞の共培養時に低濃度の細胞外マトリクスを添加することで、毛包オルガノイドを作製することに成功した。すなわち、ヒト毛乳頭細胞とヒト毛包由来の上皮系細胞を 1:1 の比率で混合し、ごく低濃度（2%）のマトリゲルを添加した培地で 4 日間浮遊培養することで毛包オルガノイドを作製した。この毛包オルガノイドを、オキシトシン添加培地で 6 日間処理し、毛幹様構造の長さを顕微鏡画像から定量した[3]。その結果、オキシトシンの添加により、毛包オルガノイドから伸長する毛幹様構造の長さは、添加なしのコントロールと比べて有意に増加した（図2）。この結果は、オキシトシンに育毛促進効果があることを示唆している。

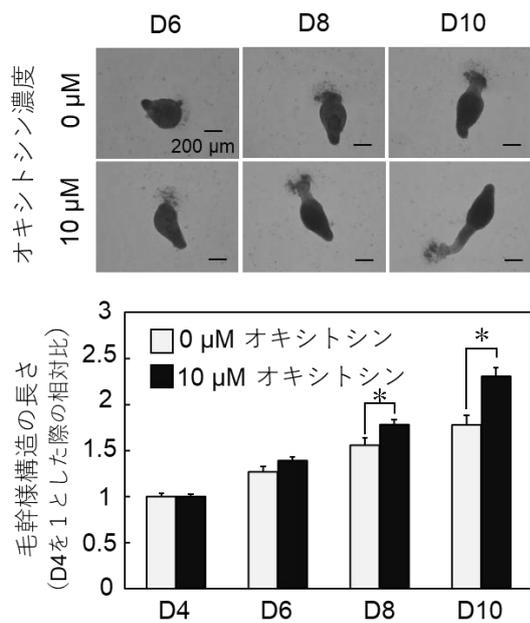


図2 毛包オルガノイドを用いたオキシトシンの評価、顕微鏡写真(上)と毛幹長の定量結果(下)

続いて、オキシトシンの作用メカニズムを理解するために、毛包の根元に存在する毛乳頭細胞に対して、オキシトシン受容体の免疫染色を行うとともに、オキシトシン添加に伴い発現上昇する遺伝子群について、網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、毛乳頭細胞はオキシトシン受容体を有しており、オキシトシンに反応した毛乳頭細胞が、隣接する毛母細胞の増殖を促進する成長因子(VEGF等)を産生することで、発毛作用を発揮する可能性が示唆された(図3)。

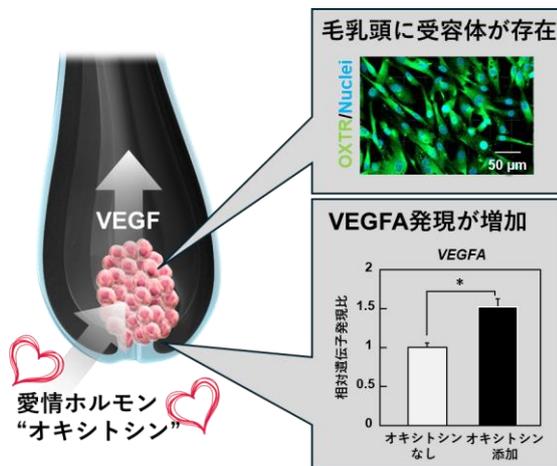


図3 オキシトシンが毛包オルガノイドの毛幹様構造を伸長させるメカニズム

オキシトシンは、血中での安定性が低く、分解されやすいペプチドである。また、分子量が大きい(Mw:1007)ため経皮吸収性が低い。育毛・発毛剤への応用を考えると、より分解性が低く、分子量の小さい代替物が好ましい。実際に、毛包オルガノイドを用いた薬剤スクリーニングを行った結果、オキシトシン受容体を増加させる作用のあるケイヒ酸(シナモンの成分)で毛幹様構造の長さが増加することを確認した(図4)[4]。ケイヒ酸は、分子量が小さく(Mw:148)分解性も低いいため、オキシトシンシグナル経路を活性化する育毛・発毛剤への応用が期待される。

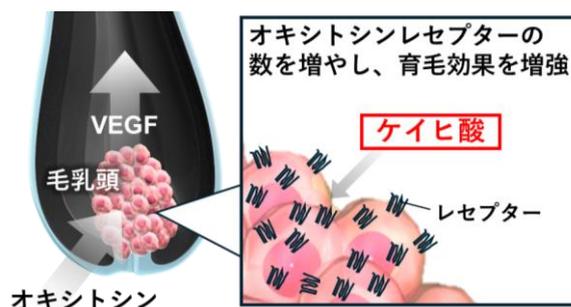


図4 ケイヒ酸の発毛促進効果

3. まとめと今後の展望

本研究では、オキシトシンやケイヒ酸が毛包に作用し、発毛を促す可能性を明らかにした。今後、脱毛症の動物モデルやヒト毛包のオーガンカルチャーモデルによる詳細な解析が必要であるが、本研究によりオキシトシンシグナルが脱毛症治療薬の新たなターゲットとなる可能性が示された。

【参考文献】

- [1] T. Kageyama, A. Shimizu, R. Anakama, R. Nakajima, K. Suzuki, Y. Okubo, J. Fukuda, Reprogramming of three-dimensional microenvironments for in vitro hair follicle induction, *Sci Adv* 8(42) eadd4603. (2022)
- [2] T. Kageyama, H. Miyata, J. Seo, A. Nanmo, J. Fukuda, In vitro hair follicle growth model for drug testing, *Sci Rep* 13(1) 4847. (2023)
- [3] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Effects of oxytocin on the hair growth ability of dermal papilla cells, *Sci Rep* 13(1) 15587. (2023)

[4] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Cinnamic acid promotes elongation of hair peg-like sprouting in hair follicle organoids via oxytocin receptor activation, *Sci Rep* 14(1) 4709. (2024)

毛髪再生のための毛乳頭細胞培養法の開発

「再生毛髪的大量調製革新技术開発」プロジェクト

YAN LEI

1. はじめに

毛乳頭細胞は、毛包の基部に局在する高度に特殊化された間葉系細胞であり、毛包の形態形成と毛周期の制御において重要な役割を果たしている。毛髪の再生医療を実現するには、患者1名あたりに相当数の細胞が必要となる。例えば、現在想定されている毛髪再生医療では、まず患者から10本程度の毛包を採取し、顕微鏡下で毛乳頭を分離する。この限られた数の毛乳頭から十分量の毛乳頭細胞を得るために、生体外で増殖させる必要がある。ただし問題は、この培養中に毛乳頭細胞の特性が失われ、発毛誘導能が著しく低下することである[1]。このような継代培養における毛乳頭細胞の機能低下の問題を解決するため、さまざまなアプローチが報告されている。现阶段で最も効果的なのはスフェロイド培養法であり、生体内毛包における毛乳頭の形状に近いことから理想的な手法とされている。

本研究は、毛乳頭細胞の毛髪再生能の向上に、従来考えられていなかった高密度重層化培養法が有効であることを発見したことが発端である。これにより、毛髪再生に重要な幹細胞の大量調製が可能となった。

2. 実験と結果

2.1. 毛乳頭細胞の重層化培養

私たちはヒト毛乳頭細胞で高密度重層化培養法の効果を確認した。高密度重層培養とスフェロイド培養を1ヶ月間にわたって観察した結果を図1Aに示した。高密度重層培養では、ギムザ染色による観察において、毛乳頭細胞がコンフルエントになった後、一部の細胞が重層化して独特の様子が観察された。また、スフェロイド培養では、毛乳頭細胞の凝集体が培養の経過とともに若干ではあるが直径が大きくなる様子が示された。リアルタイムグローを用いた細胞増殖率の結果を図1B示した。一般に、培養細胞、特に上皮系の細胞では、表面を覆いつくしてコンフルエントになると、接触阻害と呼ばれる現象が生じ細胞増殖は停止する。しかし、間葉系細胞である毛乳頭細胞は、培養5日目にコンフルエントに達した後、細胞の増殖は継続し次第に積層化した。培養5日目には播種細胞数の約5倍に増加し、培養30日目には約20倍に増加した。一方、スフェロイド培養では培養30日目で播種細胞数の約3倍程度の増殖に留まっていた。

さらに、リアルタイムPCRで細胞活性を評価したとこ

ろ、発毛に強く関連するALP遺伝子の発現は、培養初期にはスフェロイド培養の方が高かったが、重層化が生じる培養7日目以降から高密度重層培養の方が高くなった。それ以外の毛髪関連遺伝子の発現についても、高密度重層培養の方が高いことが示された。

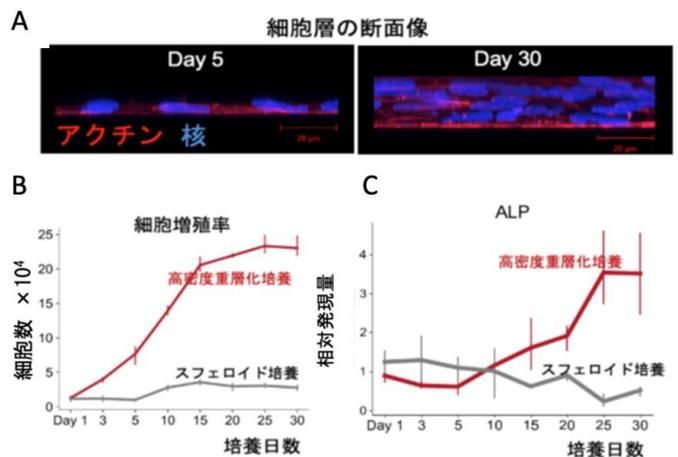


図1 購入凍結ヒト毛乳頭細胞を用いた重層化培養の in vitro 効果

(A) 重層化培養した毛乳頭細胞の共焦点画像、(B) 細胞増殖率の比較、(C) ALP 相対発現量の比較

2.2. 重層化培養した毛乳頭細胞機能上昇の原理解明について

重層化培養における機能向上メカニズムの解明についても検討を進めた。低酸素環境下での毛乳頭細胞の発毛誘導能力の向上に関する研究は、近年注目されている[2]。本研究では、毛乳頭細胞が低酸素状態にどのように反応するかを詳細に解析するため、図2に示すような酸素分圧センサーを使用し、培地A(生物由来原料基準に対応)と通常培地の酸素分圧の変化を30日間追跡した。その結果、培地Aを使用した場合、細胞の増殖速度が速く、酸素分圧は通常培地と比較して、末期には10%低下するのに対し、培地Aでは40%まで低下したことが観察された。

この酸素分圧の著しい低下は、HIF1 α という低酸素応答因子の活性化を示す指標となる。実際、HIF1 α の遺伝子発現は、培地Aでは通常培地に比べて11倍に増加し

酸素分圧モニター装置

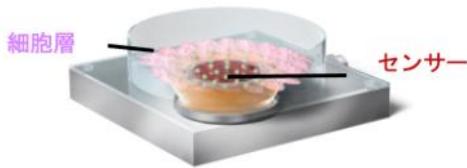


図 2 重層化培養の細胞酸素分圧を測定する酸素分圧モニター装置

た。更に、発毛関連のマーカーであるアルカリ性ホスファターゼ (ALP) の発現は、80 倍以上に増加しており、この結果は毛乳頭細胞の発毛誘導能力が顕著に向上していることを示している。

以上の結果から、低酸素環境が毛乳頭細胞の機能を高め、毛髪再生医療の有効性を大幅に向上させる可能性があることが確認された。

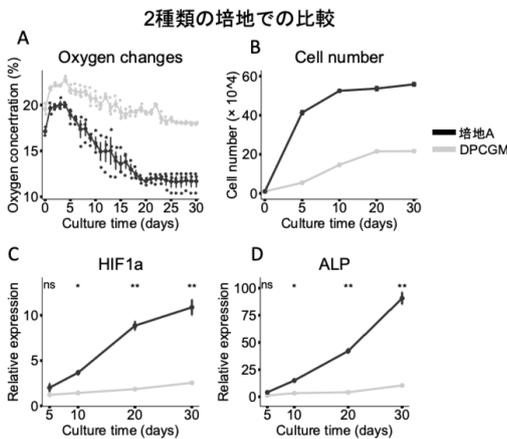


図 2 酸素分圧モニター装置を用いて、重層化培養の細胞酸素分圧を測定 (A) 酸素分圧の経時変化、(B) 細胞増殖率の比較、(C) HIF1a 相対発現量の比較 (D) ALP 相対発現量の比較

3. 重層化培養の毛乳頭細胞を用いた事業化スケジュール

上述したように、私たちはこれまで新たに開発した毛乳頭細胞の重層化培養技術により、毛乳頭細胞の増殖と機能向上を示し、低酸素シグナル経路が機能上昇の原理となっている可能性を示した。この重層化培養法によって、毛乳頭細胞はより活性化し、発毛促進の可能性が高まることが確認された。

2023 年には、この技術の商業化を目指して、企業への技術移転を開始した。この契約により、研究成果が実際の製品開発へとつながる重要な一歩となった。今後 2~3 年間で臨床試験に着手し、その成果に基づき安全性と有効性が確認され次第、日本国内での治療サービスの提供を開始する計画

である。目標とするのは、4 年以内にこれらの新しい毛髪再生治療法を市場に導入し、脱毛症に悩む多くの患者に新たな選択肢を提供することである。



図 4 重層化培養における事業化スケジュール

【参考文献】

- [1] M. Ohyama, T. Kobayashi, T. Sasaki, A. Shimizu, M. Amagai, Restoration of the intrinsic properties of human dermal papilla in vitro, *J. Cell Sci.* 125 (2012) 4114–4125. <https://doi.org/10.1242/jcs.105700>.
- [2] Zheng, M. et al. Hypoxia improves hair inductivity of dermal papilla cells via nuclear NADPH oxidase 4-mediated reactive oxygen species generation'. *Br. J. Dermatol.* 181, 523–534 (2019)

業績

【原著論文】

(投稿掲載)

1. Binbin Zhang Molino, Tatsuto Kageyama, Lei Yan, Yumeng Wu, Izuru Kawamura, Shoji Maruo, Junji Fukuda, Gelatin acrylamide with improved UV crosslinking and mechanical properties for 3D biofabrication. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 136, 1, 51-57, 2023
2. Mio Aoki, Ryoto Yokota, Shoji Maruo, Tatsuto Kageyama, and Junji Fukuda, Cryopreservation of engineered hair follicle germs for hair regenerative medicine. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 136, 3, 246-252, 2023
3. Tatsuto Kageyama, Jieun Seo, Yan Lei, and Junji Fukuda, Effects of oxytocin on the hair growth ability of dermal papilla cells. *Scientific Reports*, 13, 15587, 2023
4. Yinghui Zhou, Jieun Seo, Shan Tu, Ayaka Nanmo, Tatsuto Kageyama, and Junji Fukuda, Cell-Derived Exosomes for Hair Regeneration, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 137, 1, 1-8, 2024
5. Ellen Sugiyama, Ayaka Nanmo, Nie Xiaolei, Nina Chang, Michinao Hashimoto, Atsushi Suzuki, Tatsuto Kageyama, and Junji Fukuda, Large-scale preparation of hair follicle germs using a microfluidic device, *ACS Biomaterial Science and Engineering*, 10, 2, 998-1005, 2024
6. Tatsuto Kageyama, Jieun Seo, Yan Lei, and Junji Fukuda, Cinnamic acid promotes elongation of hair peg-like sprouting in hair follicle organoids via oxytocin receptor activation. *Scientific Reports*, 14, 4709, 2024

(投稿中)

7. Shan Tu, Tatsuto Kageyama, Jieun Seo, Yinghui Zhou, and Junji Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, *ACS Biomaterial Science and Engineering*

【口頭発表】

1. 南茂彩華、杉山衣蓮、景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療のためのヘアマイクロゲルの大量調製
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第47回研究会
、2023年5月14日、東北大学 川内キャンパス
2. JIEUN SEO, TATSUTO KAGEYAMA, JUNJI FUKUDA
The role of HIF-1a in dermal papilla cells
SMBE23, 2022年7月23-27日、Ferrara, Italy
3. 景山達斗
工学的手法を利用した毛髪再生技術の開発
第101回日本生物工学会研究会、2023年9月3-5
日、名古屋大学東山キャンパス
4. 景山達斗、福田淳二
毛包オルガノイドの脱毛症治療薬スクリーニングへ

の応用、第101回日本生物工学会研究会、2023年9
月3-5日、名古屋大学東山キャンパス

5. 松元琴音、景山達斗、Seo Jieun、福田淳二
毛髪再生医療のためのヒト毛乳頭細胞の低酸素刺激
培養、第101回日本生物工学会研究会、2023年9月
3-5日、名古屋大学東山キャンパス
6. 景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療のためのオルガノイド培養技術、化学
工学会第54回秋季大会、2023年9月11-13日、福
岡大学 七隈キャンパス
7. 肥高龍彦、景山達斗、福田淳二
Transplantation of hair follicles with long hair shafts
generated in in vitro organoid culture、International
Conference on Biofabrication 2023、2023年9月17-20
日、Saskatoon, Canada
8. 景山達斗、福田淳二
毛包オルガノイドを用いたオキシトシンの育毛効果
の理解、第45回日本バイオマテリアル学会、2023
年11月7日、神戸国際会議場
9. Tu Shan、景山達斗、福田淳二
Exploring Genes Associated With Hair Graying Using
Hair Follicle Organoid, TERMIS-AP 2023, 香港
10. 景山達斗、福田淳二
毛包オルガノイドを用いたオキシトシンの育毛効果
の理解、第45回日本バイオマテリアル学会、2023
年11月7日、神戸国際会議場
11. 南茂彩華、景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療のためのバイオプリンタを用いた移植
組織の大量調製、第61回人工臓器学会大会、ホテル
イースト21 東京
12. Tu Shan、景山達斗、福田淳二
毛包オルガノイドを用いた白髪 in vitro モデルの作
製、第61回人工臓器学会大会、ホテルイースト21
東京
13. SEO JIEUN、景山達斗、福田淳二
Hypoxia inducible factor-1a によるヒト毛乳頭細胞の
発毛関連遺伝子の発現促進、2023 日本分子生物学会
年会、神戸国際会議場
14. 景山達斗、福田淳二
Tissue engineering of hair follicle germs using hydrogel
shrinkage and microfluidic devices、IEEE-NANOMED
2023、2023年12月6日、OIST
15. 南茂彩華、景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療のための毛包原基のバイオプリンテ
ィング、2023年12月8日、第9回細胞凝集研究会、
アバンセホール、佐賀
16. 肥高龍彦、景山達斗、福田淳二
オルガノイド培養で作製した長い毛幹を有する毛包

の移植、2023年12月8日、第9回細胞凝集研究会、アバンセホール、佐賀

17. 宮田ひかる、景山達斗、笠井敬一郎、福田淳二
ヒト皮膚微小片を用いたマウス背部における毛包を有するヒト皮膚の構築、2023年12月8日、第9回細胞凝集研究会、アバンセホール、佐賀
18. 景山達斗、福田淳二
Hair follicle organoid formation through self-assembly of epithelial and mesenchymal cell、RIKEN BDR Organoid Workshop、2024年2月6日、理研、神戸
19. 景山達斗、福田淳二
再生医療や創薬のための毛包オルガノイドの構築、JBA 奨励賞受賞者特別講演企画セミナー、2024年3月13日、Web
20. 石川向陽、景山達斗、福田淳二
毛髪再生に必要なヒト毛包上皮系細胞群の探索、化学工学会第89年会、2024年3月18日、大阪公立大学
21. 金文、景山達斗、高野智圭、三木敏生、福田淳二
ヒト羊膜上皮細胞を用いた毛包オルガノイドの作製、化学工学会第89年会、2024年3月18日、大阪公立大学
22. 廣田京飛、闫雷、景山達斗、福田淳二
毛包構造を伴う in vitro 皮膚モデル、化学工学会第89年会、2024年3月18日、大阪公立大学
23. 中村光里、闫雷、景山達斗、福田淳二
重層化培養した毛乳頭細胞のエクソソーム解析、化学工学会第89年会、2024年3月18日、大阪公立大学
24. 景山達斗、福田淳二
毛包オルガノイドを用いたオキシトシンの育毛効果の評価、第23回日本再生医療学会、2024年3月23日、朱鷺メッセ、新潟
25. 宮田ひかる、景山達斗、笠井敬一郎、福田淳二
ヒト皮膚微小片を用いたマウス背部における毛包を有するヒト皮膚の構築、第23回日本再生医療学会、2024年3月23日、朱鷺メッセ、新潟

【記者発表・取材】

- 1.発表機関（KISTEC、横浜国立大学）
題名：「オキシトシン」に毛の成長促す働き 神奈川の研究所など発表
公表 2023年12月29日、NHK、取材 2023年12月27日
- 2.取材対応者（景山達斗）
件名：カズレーザーと学ぶ
公表（予定）未定、媒体（日本テレビ）、取材年月日 2024年3月21日

【特許】

- (1)国内特許出願 1件
- (2)国際特許出願 0件