

「毛髪再生医療実証」グループ

グループリーダー 福田 淳二

【基本構想】

現在、毛髪の再生医療をめぐるのは、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を Hair Regeneration の頭文字 HR を使って、HR01, HR02, HR03 と名付け、実用化を目指した研究開発を進めている（図）。

「HR01 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。

「HR02 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。

「HR03 再生毛包の移植」に至っては、生体外ではほぼ 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。また、生体外の毛髪再生技術を利用して構築した毛包オルガノイドを創薬モデルとして応用することで、脱毛症の治療薬開発にも貢献する。



図 我々が進める3つの毛髪再生アプローチ

1. 2024 年度の研究目的

プロジェクト6年目となる2024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。

(HR01) 毛乳頭細胞の移植による毛髪再生

(HR02) 毛包原基の移植による毛髪再生

(HR03) 生体外再生毛包の移植による毛髪再生

(HR01)に関して、コア技術「毛乳頭細胞の重層化培養技術」の国内の特許査定が得られ、毛髪再生医療の事業化を目指す段階にある。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。(HR02)に関して、毛包原基の作製に必要な細胞源の培養技術として、毛包上皮幹細胞の自己凝集化培養を開発し、特許出願を完了した。また、細胞の若返りやオートファジーの活性化により、毛髪再生能を向上させる技術を新たに開発した。(HR03)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、セロトニンの育毛・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、(2)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. 2024 年度の研究成果

(HR01) 毛乳頭細胞の移植による毛髪再生

細胞移植による毛髪再生治療は、2024 年に資生堂が国内の医療機関での自由診療を開始した。資生堂の「毛髪再生治療」では、特定細胞加工物（増殖培養した毛球部毛根鞘細胞）を脱毛症患者の頭皮に注入する。注入された細胞加工物は、休止期毛包を活性化することで、発毛を促進する。一般に、細胞移植による再生治療においては、特定細胞加工物の品質が治療成果に大きく影響する。特に、毛髪再生治療に用いられる細胞源（毛球部毛根鞘細胞や毛乳頭細胞）は増殖培養中に毛髪再生能力を大きく失いやすく、優れた細胞培養技術の確立は、今後さらなる治療成果の向上に不可欠といえる。

このような背景から、我々は毛髪再生治療に用いられる細胞源（特に毛乳頭細胞）の増殖培養技術の開発を進め、これまでに電気刺激培養 [1]やゲルビーズ培養 [2, 3]など様々な培養技術を開発してきた。このような研究を進める中で、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、PCT/JP2023/6551）。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。2024 年度は、共同研究先となるロート製薬株式会社に対し、重層化培養の技術移転を行った。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。また、実用化に向けた最適化検討も進めている。早期の実用化を目指して研究開発を進めていきたい。

(HR02) 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） [4]、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 [5-12]。2024 年度は、細胞増殖技術に注力して検討を

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、PCT/JP2023/6551）、毛包上皮幹細胞は三次元培養（特許第 7078925 号）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、細胞数の増殖率が低いことが課題であった。この課題を解決するための新たな培養技術として、自己凝集化培養を開発した。この方法では、毛包上皮幹細胞を培養ディッシュ上で 30 日間培養するといったシンプルなものである（従来の平面培養は 5 日間で継代）。細胞は培養と共にディッシュ表面を覆うように増殖したのち、一部の細胞が剥離する形で自発的に凝集体の形成が始まる。凝集体は数十マイクロメートルサイズまで達すると、増殖が緩やかになるが、それと共に幹細胞マーカーの発現が増加するようになる。自己凝集化培養により増殖させた毛包上皮幹細胞の毛髪再生能力を評価するため、免疫不全マウスへの移植実験を行った。従来の平面培養した後の毛包上皮幹細胞をマウス間葉系細胞と混合し、懸濁液をマウス皮下に移植した場合は発毛が見られない一方で、自己凝集化培養した毛包上皮幹細胞を移植すると発毛が確認され、再生した毛の表面には、毛髪特有のキューティクル構造も観察された。本技術は 2024 年度に特許出願を完了した。

また、細胞の“老化”に着目した細胞培養技術の開発も進めている。毛包は胎児期に形成され、出生後も一定の周期で再生を繰り返す器官である。そのため、成人の細胞でも毛髪再生が可能と考えられている。しかし、胎児細胞と成人細胞を比較すると、毛髪再生能は圧倒的に胎児細胞の方が高い。もし、成人細胞を胎児の状態まで若返らせることができれば、毛髪再生能を劇的に向上できる可能性がある。そこで我々は、iPS 細胞を作製するプロセスを参考に、遺伝子編集による毛乳頭細胞の若返りを試みた。方法の詳細は割愛するが、若返りさせた毛乳頭細胞では胎児マーカーが増加し、それに伴い、毛髪再生能を示すマーカーが向上する様子が確認された。また、この細胞を免疫不全マウスに移植すると毛髪再生能が有意に向上した。

オートファジーは細胞内のごみ回収といわれ、細胞で発生した活性酸素などの有害物質を排除する生体システムである。しかし、このオートファジーの機能は、加齢とともに低下する。これに伴い、様々な臓器や組織で疾患が生じることが明らかになっている。実際に、歳とともに進行する脱毛症とオートファジーには相関があることが報告されている。我々は、毛乳頭細胞にオートファジーの活性化剤（ラパマイシン）を添加する実験を行った。その結果、ラパマイシン処理した毛乳頭細胞は、毛髪再生能を示すマーカー遺伝子の発現が有意に向上し、移植後の毛髪再生本数は 3 倍程度向上した。以上より、遺伝子編集やオートファジーの活性化による細胞の若返りは細胞の毛髪再生能を向上させることが明らかとなった。今後は、細胞の若返りと細胞増殖技術を組み合わせることで、より毛髪再生に適した幹細胞を調製する手法を確認していきたい。また、

このようにして得られた細胞を用いて、毛包原基を作製することで、ヒト細胞で毛髪を効率よく再生する技術の確立を目指す。

(HR03) 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 [13]。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 [14]。

今年度は、臨床応用に向けた研究開発として、脱毛症患者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、セロトニンの育毛・発毛促進効果を見出し、特許出願に至っている。その作用メカニズムの一部も明らかにし、片頭痛薬として臨床使用されているセロトニンレセプターのアゴニスト、スマートリプタンが育毛・発毛作用を有することも発見している。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。

【参考文献】

- [1] L. Yan, T. Kageyama, B. Zhang, S. Yamashita, P.J. Molino, G.G. Wallace, J. Fukuda, Electrical stimulation to human dermal papilla cells for hair regenerative medicine, *J Biosci Bioeng* 133(3) (2022) 281-290.
- [2] T. Kageyama, L. Yan, A. Shimizu, S. Maruo, J. Fukuda, Preparation of hair beads and hair follicle germs for regenerative medicine, *Biomaterials* 212 (2019) 55-63.
- [3] M. Yamane, J. Seo, Y. Zhou, T. Asaba, S. Tu, A. Nanmo, T. Kageyama, J. Fukuda, Effects of the PI3K/Akt signaling pathway on the hair inductivity of human dermal papilla cells in hair beads, *J Biosci Bioeng* 134(1) (2022) 55-61.
- [4] 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* 154 (2018) 291-300.
- [5] T. Kageyama, L. Yan, A. Shimizu, S. Maruo, J. Fukuda, Preparation of hair beads and hair follicle germs for regenerative medicine, *Biomaterials* 212 (2019) 55-63.
- [6] 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) (2020) 666-671.
- [7] T. Kageyama, Y.S. Chun, J. Fukuda, Hair follicle germs containing vascular endothelial cells for hair regenerative medicine, *Sci Rep* 11(1) (2021) 624.
- [8] 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) (2021) 679-685.
- [9] 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) (2023) 1510-1519.
- [10] A. Nanmo, L. Yan, T. Asaba, L. Wan, T. Kageyama, J. Fukuda, Bioprinting of hair follicle germs for hair regenerative medicine, *Acta Biomater* 165 (2023) 50-59.
- [11] 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).
- [12] Y. Migita, T. Kageyama, N. Ito, N. Esaka, A. Nanmo, J. Seo, Y. Lei, S. Hamano, J. Fukuda, Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine, *J Biosci Bioeng* (2025).
- [13] 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) (2022) eadd4603.

[14] T. Kageyama, H. Miyata, J. Seo, A. Nanmo, J. Fukuda, In vitro hair follicle growth model for drug testing, *Sci Rep* 13(1) (2023) 4847.

毛包オルガノイドを用いた育毛・発毛素材の評価

「毛髪再生医療実証」グループ

景山 達斗

1. はじめに

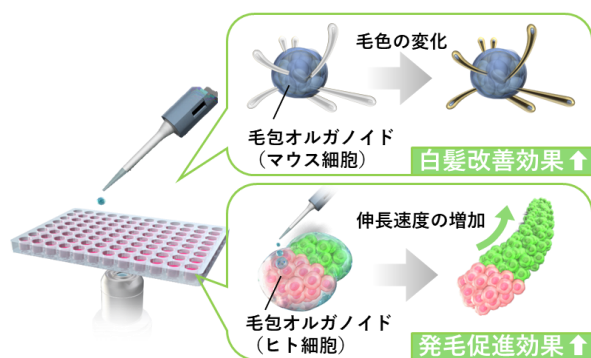
創薬開発の現場では、ハイスループットかつ正確に薬効を評価できる実験系が求められる。現在の育毛・発毛剤の評価では、「実験動物を用いた発毛試験」および「ヒト毛包の器官培養」が用いられている。前者は、マウスの背部皮膚を剃刀で脱毛し、そこに薬剤を毎日塗布することで、薬による毛の成長変化を観察する方法である。経皮吸収も含めて評価できるが、マウスとヒトの種差による有効性の違いがあるため、必ずしも正確な結果が得られる訳ではない。また、近年の化粧品業界の動物実験の規制により、本実験系の使用が禁止となっている企業も多い。後者は、ヒトの頭皮から毛包をくり抜き、採取した毛包に薬剤候補を振りかけて、毛の長さを測定する方法である。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 [1,2]。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。

本稿では、この毛包オルガノイドを利用した育毛・発毛素材の評価の例をいくつか紹介する（図）。

2. 実験と結果

(1) オキシトシン関連の育毛・発毛素材

オキシトシンは出産・授乳期に産生されるペプチドホルモンであり、家族やペットとのスキンシップによっても産生されるため愛情ホルモンとも呼ばれる。このように私たちに馴染みの深いホルモンであるが、生体に及ぼす作用の全貌は明らかになっておらず、オキシトシンと臓器のクロストークに関する研究は今なお世界中で展開されている。本研究では、毛包オルガノイドを用いて、オキシトシンが毛包に与える作用を評価した。毛包オルガノイドにオキシトシンを添加すると、毛包オルガノイドから伸長する毛幹様構造の長さが増加したことから、オキシトシンが育毛・発毛作用を有している可能性が示された [3]。作用メカニズムとして、毛乳頭細胞の持つレセプターにオキシトシンが結合し、VEGF などの育毛因子を産生することを見出している。また、オキシトシン受容体のアゴニスト（WAY267464 や LIT001）やオキシトシン受容体を増加させる成分（ケイヒ酸）においても、育毛効果がみられたことから [4, 5]、オキシトシンシグナル経路の活性化は育毛・発毛促進に有効と考えられる。これらの薬剤の有効性は、「実験動物を用いた発毛試験」および「ヒト毛包の器官培養」においても検証しており、育毛・発毛促進効果を確認している。以上、毛包オルガノイド評価系を用いて、オキシトシンが毛の伸長を促進するという新たな知見を見出すことができた。



毛包オルガノイドで有効性が認められた素材

添加因子	効果	分類
ミノキシジル	発毛促進	市販の育毛・発毛成分
オキシトシン	発毛促進	オキシトシン関連
ケイヒ酸	発毛促進	オキシトシン関連
WAY267464	発毛促進	オキシトシン関連
LIT001	発毛促進	オキシトシン関連
脂肪酸混合物	発毛促進	脂肪酸関連
セロトニン	発毛促進	セロトニン関連
スマトリプタン	発毛促進	セロトニン関連
α -MSH	白髪改善	メラノソーム生成
RGMB	白髪改善	メラノソーム輸送

図 毛包オルガノイドを用いた薬剤評価

(2) 脂肪酸関連の育毛・発毛素材

脂肪酸は、皮膚のバリア機能を維持し、乾燥や肌荒れを防ぐなど皮膚の恒常性維持において重要な生体物質である。本研究では、毛包オルガノイドを用いて、脂肪酸が毛包に与える作用を評価した。毛包オルガノイドの細胞に脂肪酸混合物を作用させると、毛包オルガノイドから伸長する毛幹様構造の長さが増加したことから、脂肪酸が育毛・発毛促進に関与している可能性が示された [6]。作用メカニズムとして、脂肪酸が HIF-1 α の発現を向上させることで、毛乳頭細胞の発毛関連マーカー (LEF1、VCAN、ALP) の発現が増加したと考えられる。我々の先行研究において、毛乳頭細胞の発毛機能向上に HIF-1 α が有効であることは報告していたが [7]、本研究では HIF-1 α を脂肪酸により制御できることが明らかとなった。

(3) セロトニン関連の育毛・発毛素材

我々は「セロトニン」の育毛・発毛作用に関しても、毛包オルガノイドを用いて評価を行った。セロトニンは脳や腸で産生されるホルモンであり、幸福感と関係があることから、幸せホルモンともよばれる。このセロトニンを毛包オルガノイドに添加すると、毛幹様構造の長さが有意に増加し、ヒト毛包のオーガニカルチャーにおいても、セロトニン処理により毛幹の長さが有意に増加した [8]。これらの結果は、セロトニンに育毛・発毛作用があることを示唆している。セロトニン受容体をターゲットとした薬剤の一つに、片頭痛の治療薬として開発されたスマトリプタンがある。この薬剤を毛包オルガノイドに添加して発毛促進効果を検証した結果、スマトリプタンの添加により、オルガノイドの毛幹様構造の長さが有意に増加した。この結果は、セロトニン受容体をターゲットとした薬剤を、プロドラッグとして育毛・発毛剤分野に応用できる可能性を示唆している。セロトニンは血液脳関門を通過しないため、毛包には腸で産生されたセロトニンが血液を通じて受け渡される。すなわち、セロトニンは腸-毛包相関に関わる因子である可能性が高い。腸内環境の改善による脱毛症治療という新たなアプローチも今後期待できるかもしれない。

(4) 白髪を改善する素材

マウスの細胞で作製した毛包オルガノイドは生体外で毛の色の変化まで忠実に再現できており、生体外でメラノソームが輸送する様子まで観察することが可能である。我々は、毛包オルガノイドにメラノソームの生成・輸送を促進する試薬を添加することで、毛の色を濃くする薬剤の評価モデルとして、毛包オルガノイドが利用できるか評価した。 α -メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) は、メラノソーム生成を促進する試薬として知られる。毛包オルガノイドに α -MSH を作用させると、オルガノイドから形成する毛の色が濃くなる様子が観察された [1]。メラノソーム輸送を促進する試薬 Repulsive guidance molecule B (RGMB)

においても同様に、オルガノイドから形成する毛の色が濃くなった。これらの結果は、毛包オルガノイドが白髪を改善する素材の評価系として利用できる可能性を示唆している。我々の最近の研究では、毛包オルガノイドと遺伝子ノックダウン技術を用いて、白髪の原因遺伝子を探索することに成功している [9]。毛包オルガノイドで白髪の原因を解明できれば、その原因から白髪を改善する新たな素材を探索することも可能となるだろう。

3. まとめと今後の展望

本研究では、育毛・発毛素材の評価に毛包オルガノイドが利用できる可能性を明らかにした。今後、本評価系が毛髪科学分野の1つの評価系として利用されることに期待したい。一方、このモデルの課題として、生体外で毛周期まで観察できない点がある。休止期毛包の再活性化をターゲットとした脱毛症治療薬では、毛周期まで観察できることが好ましく、今後、毛包オルガノイド技術のさらなる深化が求められるだろう。

【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) (2022) eadd4603.
- [2] T. Kageyama, H. Miyata, J. Seo, A. Nanmo, J. Fukuda, In vitro hair follicle growth model for drug testing, *Sci Rep* 13(1) (2023) 4847.
- [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) (2023) 15587.
- [4] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Effects of oxytocin receptor agonists on hair growth promotion, *Sci Rep* 14(1) (2024) 23935.
- [5] 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) (2024) 4709.
- [6] J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, D.W. Jeong, Y.S. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway, *Sci Rep* 15(1) (2025) 4621.
- [7] J. Seo, L. Yan, T. Kageyama, A. Nanmo, Y.S. Chun, J. Fukuda, Hypoxia inducible factor-1 α promotes trichogenic gene expression in human dermal papilla cells, *Sci Rep* 13(1) (2023) 1478.
- [8] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth, *Sci Rep* 15(1) (2025) 24525.
- [9] S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, *J Biosci Bioeng* 139(2) (2025) 141-146.

毛包上皮幹細胞の自己凝縮化培養

「毛髪再生医療実証」グループ

YAN LEI

1. はじめに

毛髪は生命維持に直接関与しないが、外見や心理面に強く影響する重要な器官である。なかでも男性型脱毛症（AGA）は日本国内で 1000 万人以上が悩む疾患とされ、治療ニーズは非常に高い。現在は内服薬や自毛植毛などが主流であるが、効果の個人差や副作用、費用などの課題が残ることから、根本的な解決策として毛髪再生医療への関心が高まっている。

毛髪再生医療は、毛包由来の幹細胞を用いて毛包組織を再構築し、脱毛部位へ移植することで新たな毛髪を再生させる技術である。なかでも毛包上皮幹細胞（HFSC）は、毛幹そのものになる上皮細胞系列を生み出すための重要な細胞であり、その *in vitro* での幹細胞性維持と細胞数増加が再生医療の実現の鍵を握る。

しかし HFSC は、培養中に幹細胞マーカーの発現が低下し、発毛能も著しく減少することが知られている。この課題に対し、マトリゲルを用いた 3 次元培養[1]や、細胞表面コーティング法[2]、酸素透過性デバイスによる凝集培養などが報告されている[3]が、いずれもヒト細胞への応用には限界がある。ROCK 阻害剤を用いた短期的な維持法も提案されているが、長期的かつ臨床応用に適した培養法としては不十分である。

そこで本研究では、当研究室において毛乳頭細胞に適用することで機能向上が確認された「非継代・長期高密度培養法」を HFSC に応用し、幹細胞性を維持し、なおかつ増殖させることが可能かを検証した。実際に細胞は凝集しながら増殖したため「自己凝集化培養法」と名付け、その有効性を、*in vitro* および *in vivo* において解析した。

2. 実験と結果

(1) 自己凝集化培養による HFSC の機能維持と増殖

まずは、HFSC に対して、継代を行わず 30 日間同一培養面で培養する「凝集培養法」の有効性を検証した。

初代培養では、播種後 5 日でコンフルエントに達したが、幹細胞マーカー CD200 の発現は採取直後と比べて低下した。1 回継代後に長期培養を行うと、培養 10 日目前後に細胞が自発的に凝集塊を形成し（図 1）、通常のコ

ンフルエント時と比較して最大約 3 倍の細胞数を回収できた。

20 日目前後では、CD200 および ITGA6 の発現が上昇

し、K14 の発現は減少していた。免疫染色でも CD200 および K15 陽性細胞が増加しており、RNA・タンパク質レベルの両方で幹細胞性の回復が確認された。継代数 3 の条件でも同様の傾向が得られたが、マーカー発現はやや低下した。

以上の結果より、凝集培養は HFSC の幹細胞性を維持しつつ増殖させる簡便かつ有効な手法であり、特に培養 20 日前後が細胞回収の最適タイミングと考えられる。

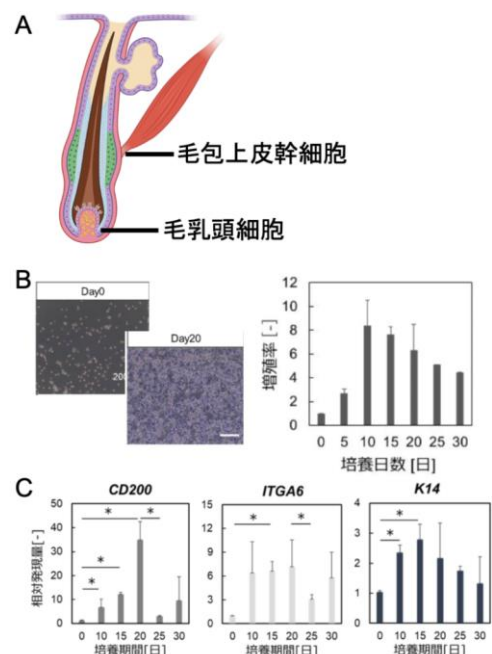


図 1. ヒト毛包上皮幹細胞の自己凝集化培養

A 毛包の構造模式図。毛包上皮幹細胞はバルジ領域に、毛乳頭細胞は毛包基部に存在する。

B 自己凝集化培養中における細胞形態の変化および増殖率。

C 自己凝集化培養における幹細胞マーカー（CD200, ITGA6）および分化マーカー（K14）の遺伝子発現の経時的変化。

(2) *in vitro* 毛包オルガノイドによる評価

次に、凝集培養後の HFSC とヒト毛乳頭細胞をマトリゲル中で共培養し、毛包オルガノイドを作製した。その結果、通常の平面培養由来の細胞と比べて、オルガノイドからの発芽構造形成が有意に早く、発芽率や伸長速度も向上していた。これは、凝集培養により HFSC の毛髪形成能力が改善されたことを示唆している。（図 2. A）

(3) in vivo 移植試験

さらに、凝集培養後の HFSC とマウス胎児由来間葉系細胞を混合し、ヌードマウス背部皮下に移植した。従来の平面培養では毛髪再生が確認できなかったが、凝集培養由来の細胞では移植部位において発毛が観察された。これは、in vitro で示された幹細胞性の回復が in vivo でも有効に機能していることを示す (図 2. B)。

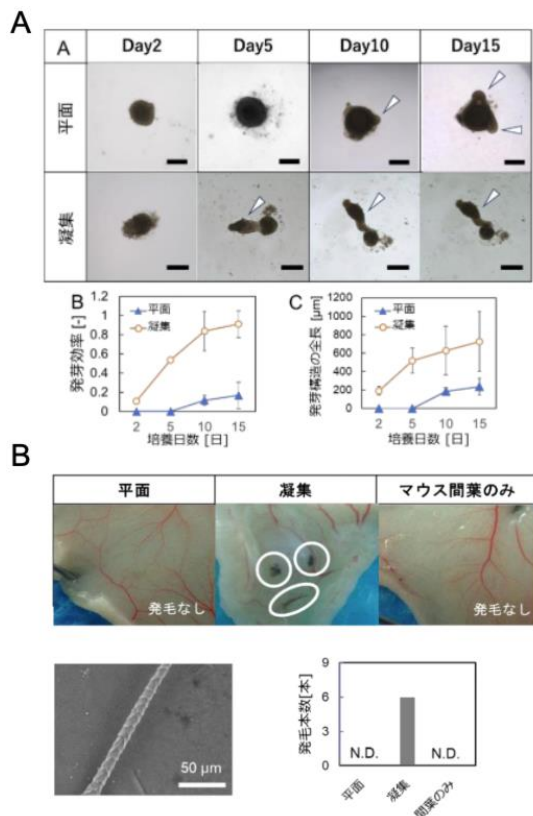


図 2. 自己凝集化培養による毛包形成と発毛能の評価
A: ヒト毛包上皮幹細胞と毛乳頭細胞から作製したオルガノイドの成長比較。凝集培養群ではより早期に発芽構造が形成され、成長率・伸長率ともに高かった。
B: ヌードマウスへの移植実験。凝集培養群のみで発毛が確認され、他条件では再生なし。

3. まとめと今後の展望

本研究では、脱毛症患者由来のヒト毛包上皮幹細胞を対象に、簡便な凝集培養法を用いて、幹細胞性を維持しつつ大量に増殖させる可能性を検討した。

その結果、継代を行わず 30 日間にわたって培養を続けることで、細胞が自発的に凝集し、CD200 や ITGA6 などの幹細胞マーカーの発現が上昇したことが明らかとなった。加えて、分化マーカーである K14 の発現は抑制され、幹細胞性の維持が示唆された。さらに、免疫染色によりタンパク質レベルでもマーカーの陽性率が向上していることが確認された。

in vitro においては、凝集培養群から作製した毛包オルガノイドにおいて、従来の平面培養群よりも高い効率で発芽構造の伸長が認められた。また、in vivo 試験では、

凝集培養によって得られた HFSC を移植した場合にのみ、発毛が確認され、本手法の有効性が機能的にも裏付けられた。

今後は、凝集培養による幹細胞性維持の分子機構を解明することが求められる。特に、Wnt/ β -カテニンや Notch、PI3K-AKT 経路など、HFSC の機能維持に関与するとされるシグナル伝達系への影響を明らかにする必要がある。また、本手法の臨床応用に向けて、GMP 対応の培養系の開発や、安全性・再現性を担保する標準化プロトコルの確立も重要である。将来的には、毛乳頭細胞やメラノサイトなど他の毛包構成細胞との組み合わせにより、より高機能な毛包再生系の構築が期待される。

【参考文献】

- [1] Carlos Andrés Chacón-Martínez et al. "Hair follicle stem cell cultures reveal self-organizing plasticity of stem cells and their progeny," EMBO J 36, 151-164, 2016.
- [2] P. Chen et al. "Nanoscale microenvironment engineering for expanding human hair follicle stem cell and revealing their plasticity," J Nanobiotechnol 19, 94, 2021.
- [3] S. Hirano et al. "Expansion Culture of Hair Follicle Stem Cells through Uniform Aggregation in Microwell Array Devices," ACS Biomater. Sci. Eng. 9, 3, 1510-1519, 2023.

業績

【原著論文】 (投稿掲載)

1. Tatsuto Kageyama, Jieun Seo, Yan Lei, and Junji Fukuda, Effects of oxytocin receptor agonists on hair growth promotion. *Scientific Reports*, 14, 23935, 2024 [IF: 3.8]
2. Shan Tu, Tatsuto Kageyama, Jieun Seo, Yinghui Zhou, and Junji Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 139, 2, 141-146 [IF:2.3]
3. Jieun Seo, Kotone Matsumoto, Ayaka Nanmo, Shan Tu, Do-Won Jeong, Yang-Sook Chun, Lei Yan, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway., *Scientific Reports*, 15, 4621, 2025 [IF: 3.8]

(投稿中)

4. Yuki Migita, Tatsuto Kageyama, Naoya Ito, Naoki Esaka, Ayaka Nanmo, Jieun Seo, Yan Lei, Sayuri Hamano, Junji Fukuda, Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, [IF:2.3]
5. Tatsuto Kageyama, Riki Anakama, Shan Tu, Yuki Migita, Ayaka Nanmo, Lei Yan, Jieun Seo, Junji Fukuda, Hair follicle organoids using human iPSC-derived epithelial cells for hair regenerative medicine. *Scientific Reports* [IF: 3.8]
6. Tatsuto Kageyama, Lei Yan, Jieun Seo, Junji Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth. *Communications biology* [IF: 5.2]

【書籍】

1. 景山 達斗, 工学的手法を利用した毛髪再生技術の開発, *生物工学会誌*, 102(4) 158-162 (2024)
2. 景山 達斗, 再生医療や創薬のための毛包オルガノイドの構築, *バイオサイエンスとインダストリー*, 82(3), 344-345 (2024)
3. 景山 達斗, 福田 淳二, 発毛剤のスクリーニングのための毛包オルガノイド, *細胞*, 56(9), 678-682 (2024)

【口頭発表】

1. Lei Yan, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
Multilayer culture of dermal papilla cells promotes its growth while maintaining its hair inductive ability, World Congress of Hair Research 2024, 2024 年 4 月 6-9 日、Dallas, USA
2. Jieun Seo, Lei Yan, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
The regulation of hair inducing genes by hypoxia-inducible factor-1a in dermal papilla cells, WCHR2024,

2024 年 4 月 6-9 日、Dallas, USA

3. 景山達斗
毛髪再生医療の実現に向けた組織工学技術
第 260 回有機エレクトロニクス材料研究会、2024 年 4 月 11 日、Web
4. Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
Application of hair follicle organoids in screening hair growth-promoting drugs, World Biomaterial Congress 2024, 2024 年 5 月 26-31 日、Daegu, Korea
5. Junji Fukuda
Hair regenerative medicine using tissue engineering approaches, World Biomaterial Congress 2024, 2024 年 5 月 26-31 日、Daegu, Korea
6. Jieun Seo, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
毛髪再生機能向上のための HIF-1a メカニズムの解明とその応用, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 49 回研究会研究会、2024 年 6 月 1-2 日、東京農工大学 小金井キャンパス
7. Junji Fukuda
Tissue Engineering for Hair Regenerative Medicine, Asian Association of Hair Restoration Surgeons, 2024 年 6 月 6-9 日、Hangzhou, China
8. Ayaka Nanmo, Atsushi Suzuki, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, Rejuvenation Of Human Adult Dermal Papilla Cells By Partial Reprogramming For Hair Regenerative Medicine, TERMIS-WC 2024, 2024 年 6 月 25-28 日、Seattle, USA
9. 福田淳二
毛包由来細胞の三次元培養
第 10 回細胞凝集研究会、2024 年 7 月 12 日、どんだんの森 アバンセホール
10. 江坂直希, Yan Lei, 景山達斗, 福田淳二
毛髪再生医療のための移植体生着率評価について
第 10 回細胞凝集研究会、2024 年 7 月 12 日、どんだんの森 アバンセホール
11. 景山達斗, 福田淳二,
微細加工を用いた細胞培養技術、日本バイオフィルム学会、2024 年 7 月 26 日、大阪公立大学
12. 福田淳二
毛髪再生医療
第 13 回細胞再生医療研究会学術集会、2024 年 9 月 7 日、甲南大学ポートアイランドキャンパス
13. 南茂彩華, 鈴木敦, 景山達斗, 福田淳二
パーシャルリプログラミングによるヒト毛乳頭細胞の若返り、第 13 回細胞再生医療研究会学術集会、2024 年 9 月 7 日、甲南大学ポートアイランドキャンパス

14. Tu Shan、景山達斗、福田淳二
白髪の治療のための in vitro 毛包モデル、第 13 回細胞再生医療研究会学術集会、2024 年 9 月 7 日、甲南大学ポートアイランドキャンパス
15. 景山達斗、福田淳二
愛情ホルモン“オキシトシン”は毛包オルガノイドの毛幹伸長を促進する、第 76 回日本生物工学会研究会、2024 年 9 月 8-10 日、東京工業大学
16. 南茂彩華、鈴木敦、景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療のためのヒト毛乳頭細胞のパーシャルリプログラミング、第 76 回日本生物工学会研究会、2024 年 9 月 8-10 日、東京工業大学
17. 景山達斗、福田淳二
毛髪再生医療の実現に向けた毛包の組織工学アプローチ、化学工学会第 55 回秋季大会、2024 年 9 月 11-13 日、北海道大学
18. Jieun Seo, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
Regulation of hair growth-related genes by HIF-1a, Biomolecular Horizons 2024, 2024 年 9 月 23 日、Melbourne Convention Center, Australia
19. 福田淳二、景山達斗、Yan Lei
再生・細胞医療の産業化に向けた神奈川県立産業技術総合研究所の取組について、BioJapan/再生医療 JAPAN/healthTECH JAPAN、2024 年 10 月 9-11 日、横浜（神奈川）
20. Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda
Hair follicle organoids for regenerative medicine and drug screening, Biofabrication2024, 2024 年 11 月 11 日、九州大学
21. Ayaka Nanmo, Atsushi Suzuki, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, Partial reprogramming of human adult dermal papilla cells for hair regenerative medicine, Biofabrication2024, 2024 年 11 月 12 日、九州大学
22. Shan Tu, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, In Vitro Hair Follicle Models: A New Approach to Hair Graying Research, Biofabrication2024, 2024 年 11 月 11 日、九州大学
23. 江坂直希, Lei Yan, 景山達斗, 福田淳二
毛髪再生医療のためのヒト毛乳頭細胞の生着率評価、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2024、2024 年 10 月 28-29 日、仙台国際センター
24. 右田裕起、立花龍式、南茂彩華、景山達斗、福田淳二、In vitro における毛髪再構築モデル、化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 50 回研究会、2024 年 11 月 25-27 日、仙台国際センター
25. Shan Tu, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, Gray Hair Model Using Hair Follicle Organoids, IEEE BNM2024, 2024 年 12 月 2-4 日、香港
26. Lei Yan, Seo Jieun, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda, Dense-Layered Culture of Dermal Papilla Cells, IEEE Bionanotechnology and BioMEMs, 2024 年 12 月 2 日、香港
27. 高梨悠、Lei Yan, 景山達斗, 佐藤文仁, 福田淳二
毛髪再生医療のための毛包上皮幹細胞培養法、化学工学会第 90 年会、2025 年 3 月 12-14 日、東京理科大学葛飾キャンパス
28. 右田裕起、立花龍式、南茂彩華、景山達斗、福田淳二、毛髪再生毛を試験可能な in vitro 毛包形成モデルの構築、化学工学会第 90 年会、2025 年 3 月 12-14 日、東京理科大学葛飾キャンパス
29. 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シグナルの発毛作用解析、第 24 回日本再生医療学会、2025 年 3 月 20-22 日、パシフィコ横浜

【記者発表・取材】

1.取材対応者（福田淳二）

件名：加藤浩次のいまからサイエンス、毛髪の“再生医療”最前線！

放送日 2024 年 4 月 19 日、BS テレ東

2.取材対応者（景山達斗）

件名：カズレーザーと学ぶ、『夢の薄毛治療！髪の毛の毛クローン毛包オルガノイド』

放送日 2024 年 4 月 23 日、日本テレビ

3.取材対応者（福田淳二）

件名：池上彰のニュースそうだったのか!!×林修の今知りたいでしょ！合体 3 時間 SP

放送日 2024 年 8 月 24 日、テレビ朝日

4.取材対応者（景山達斗）

件名：髪の毛クローン「毛包オルガノイド」

公表日 2024 年 5 月 29 日、東京スポーツ新聞

【特許】

(1)国内特許出願 1 件

(2)国際特許出願 1 件