

最終講義

Hair Biology と遺伝性毛髪異常症について

伊藤 雅章

新潟大学大学院医歯学総合研究科
皮膚科学分野

Hair Biology and Hereditary Hair Abnormalities

Masaaki Ito

*Professor & Chairman, Department of Dermatology,
Niigata University School of Medicine*

要 旨

皮膚科学の最終講義にあたって、当教室の主要な研究テーマである毛生物学および毛髪疾患病態解析について概説する。毛器官は複雑な構造を有し、活発な細胞動態を呈し、毛周期という形態変化を随時行う器官であり、医学ないし生物学においてきわめて興味深い研究対象ではあるものの、その取扱いにくさのために、皮膚の他の構造、とくに表皮に比べ、十分には研究されていない。しかしながら、この20年余りで電子顕微鏡観察の工夫、各種の単クローン抗体による免疫組織化学、発現するcDNAの解析、毛器官やその機能に関連する遺伝子の解析、毛包幹細胞理論の発展などにより、毛器官の構造と機能が詳細に判明しつつある。一方、毛髪性状は人種により相異し、また個人でも年齢や部位によって異なることも有意義なテーマである。このような中、当教室では毛器官の遺伝子解析に力を注ぎ、研究体制のグローバル化も進め、毛髪奇形や無毛症・乏毛症などの様々な遺伝性毛髪異常症の分子および遺伝子の異常を明らかにしてきた。それに伴い、それら構成分子の分布や機能も理解されるようになった。しかしながら、それら遺伝子・分子異常がいかにして毛髪の形態異常を惹き起こすかというメカニズムの解明は今後の課題である。

キーワード：毛器官、電子顕微鏡、単クローン抗体、毛ケラチン、毛髪異常症

Reprint requests to: Masaaki Ito
Department of Dermatology,
Niigata University School of Medicine,
1-757 Asahimachi - dori, Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
皮膚科学分野

伊藤 雅章

はじめに

毛髪およびそれを作る毛器官の構造と機能、あるいはその生物学的・医学的意義を解明することが hair biology (毛生物学) の目的である。皮膚科学は皮膚の変化を分類する形態学が基本であり、皮膚組織学や皮膚病理組織学も古くより盛んに行われ、組織化学法の初めとされる DOPA 反応も1世紀以上前のことである。光学顕微鏡(光顕)レベルで表皮内に Langerhans 細胞を見出すなど、先人による素晴らしい知見があり、半世紀前には光顕レベルでは、各種の特殊染色や組織化学法とともに、皮膚の組織学・病理組織学は正常皮膚および大部分の皮膚疾患の知見が教科書にまとめられるほどになっていた。そこに電子顕微鏡(電顕)が登場し、続いて免疫組織化学法が開発され、さらに単クローン抗体(MoAb)が作製され、in situ hybridization 法も加わるなど、皮膚組織の構成分子の詳細な形態学的解析が可能になった。しかしながら、毛器官は立体的に複雑な構造物であり、筆者が皮膚科医になった40年前には光顕観察で成長期毛器官の各層に名称が付けられている程度であった。さらに毛器官は毛周期という形態変化を行うが、成長期→退行期→休止期→成長期という stage 分類に留まっていた。一方、臨床的には、円形脱毛症や男性型脱毛症をはじめとする種々の脱毛症、様々な毛髪奇形をはじめとする毛髪形態異常、無毛症・乏毛症、多毛症あるいは毛髪の色素異常などの疾患が知られるものの、それらの病態はほとんど不明であった。さらに、正常ヒトでも、毛髪の性状は人種により、また個人でも遺伝、年齢や部位によっても大きく相異なるが、それらの解析も皆無であった。すなわち、毛器官は、形態学的な観察が難しいゆえに研究が遅れていた分野であったとも言える。筆者は、皮膚科医となると同時に「透過型電顕」という研究手段を得て、正常皮膚および様々な皮膚病変の微細構造を観察し、さらに毛器官の電顕観察を精力的に行い、多くの新知見を得ることができた。続いて、毛ケラチンの生化学研究やその MoAb を世界に先駆けて作製して多数の研究成果を挙げた。今や、

当教室では、毛器官に発現する多数、各種の新たな分子・遺伝子を次々に発見・解析し、毛髪異常症の病態解明にも大きな研究成果を得ている。それら、毛生物学における最近までの当教室の研究成果の一部を紹介する。

毛器官の透過型電顕観察の主な成果

透過型電顕の超薄切片としてはきわめて巨大なヒト成長期毛根の縦断切片を作ることに成功し、さらに格子のない単孔グリッドを用いて、その全体像を一機に観察することができた。すなわち、僅か1枚の超薄切片で毛器官のすべての微細構造や細胞形態・分化の様子がきわめて明瞭に理解できた。この切片で初めに発見したのは、角化帯の一定レベルのみに出現する“毛皮質トリコヒアリン顆粒”であった¹⁾。これは、毛根の横断像を観察していたのでは、ケラチン線維束の横断像に紛れ、また、角化帯の限られたレベル(毛軸方向約150nm長の範囲)のみであり、発見は不可能であったとみられる。その毛根は黒人のかかなりカールした頭髪の成長期毛根であったが、大きく弓状にカーブして、毛球で逆に曲がり、全体として下半の小さなS字形をしていた。結合織毛根鞘はS字の凹側で厚く、凸側で薄く、毛根が屈曲する要因は結合織の問題と推測した²⁾。また、この毛根の毛球部には毛母領域のみでなく、毛球の両外側にもメラノサイトを認め、メラノサイトの特異な分布として報告した³⁾。

最も大きな発見は、それまで未知であった外毛根鞘最内層細胞層(the innermost cell layer of the outer root sheath; IMC)の存在であった。すなわち、毛ケラチンに対する MoAb を作製したところ、成長期毛器官を構成する細胞層に特異的に反応する抗体のうち、内毛根鞘～毛皮質を染色するのに加えて、外毛根鞘の最内の1層の細胞層を染色する抗体を得た(図1)。そこで、電顕的にヒト成長期毛根の縦断切片を用いて、この細胞層を観察したところ、毛球から毛球部レベルまで特異な分化、角化を遂げる1層の細胞層であることが確認され⁴⁾、さらにマウス成長期毛根にも認められ

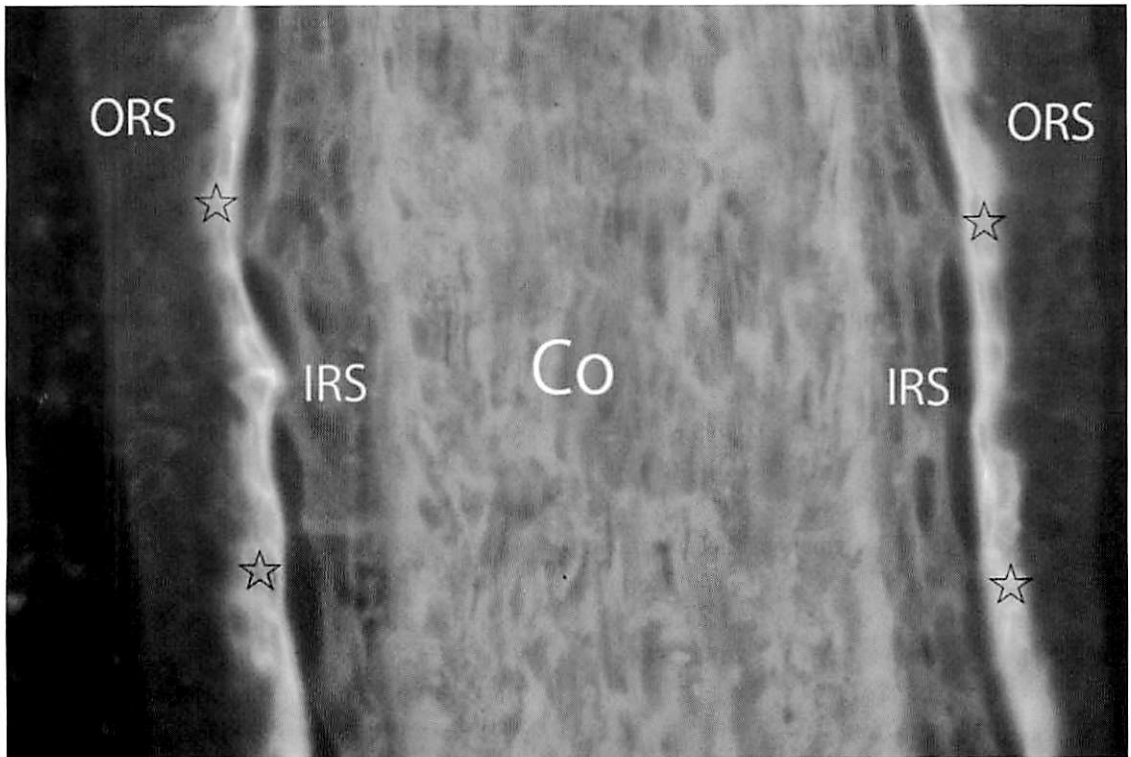


図1 HKN-5 (抗毛ケラチン単クローン抗体) 免疫組織化学染色。
(ヒト成長期毛器官角化帯)

外毛根鞘最内層細胞層 (☆) が陽性であり, 毛皮質 (Co) と
内毛根鞘 (IRS) も陽性だが, 外毛根鞘 (ORS) は陰性である。

た⁵⁾。IMCでは, 細胞質内にケラチン線維が特異的な分布を呈し, 毛球レベルから角化帯で順次角化していく内毛根鞘以内の細胞層を支持する役目をしていると考えた⁶⁾。

一方, 毛周期においては, 毛球と外毛根鞘を取巻く基板の厚さが, 成長期が進むにつれて次第に増して, 退行期に移行する際には均質化するというダイナミックな微細構造変化を示すことがわかった⁷⁾。退行期初期には, 毛乳頭はほとんど形態変化を示さないままに, 毛母を含む毛球の上皮細胞が急激に数を減じ, さらにアポトーシスにより, 毛根の上皮索が退行する様子も観察した⁸⁾。

毛髪奇形の電顕観察の意義

毛髪奇形では, まずは走査型電顕による毛髪材料の観察が形態異常の把握とその診断にきわめて重要である²⁾。光顕のみでは, 毛髪の形態異常を十分には把握できない。走査型電顕に加えて, 透過型電顕で毛の断面を観察することも有用である。ただし, 如何にしてその毛髪の形態異常が形成されるかを検討するには, 成長期毛根の光顕的, さらには透過型電顕観察は不可欠である。はじめに述べたごとく, 近年, 形態学的に免疫組織化学や in situ hybridization で, 種々の分子の存在, 変化, あるいは異常が同定できようになったが, 毛組織, その構成細胞の微細構造の異常を踏まえて, それらの結果を考えなければ, 毛髪形態異常の病

態を解明することにはならない。

Netherton 症候群の陥入性裂毛 (bamboo hair) では、毛の所々で毛小皮が毛皮質内に陥入して、結果的にその部が膨らみ、竹の節のように見える。透過型電顕で、この成長期毛根の縦断像を観察すると、毛球上部から角化帯にかけて、正常では毛軸方向に真っ直ぐであるべきケラチン線維束が、ジグザグに波を打って走行して、所々で未だ角化していない毛小皮細胞が内側に引っ張られている所見が見られた。ケラチン線維は十分に作られるものの毛皮質細胞の分化に異常があると考えた⁹⁾。その後、本症では serine protease inhibitor をコードする *SPINK5* 遺伝子の異常が明らかになり¹⁰⁾、続いて当教室の検討で合併する表皮病変 (線状魚鱗癬) において LEKTI (lymphoepithelial Kazal-type-related inhibitor) が欠如し、elafin (serine protease inhibitor の1つ) 発現が増強していることが判明した¹¹⁾。しかしながら、その酵素異常がどのようにして毛皮質の形態異常を起こすのかは、未だ説明できていない。

連珠毛は、太い部分と細い部分が繰返して連珠のような外観を呈するが、走査型電顕で観察すると明らかに細い部分が異常な構造であることがわかった¹²⁾。成長期毛根の透過型電顕観察では、角化帯に至るまでの毛皮質で、ケラチン線維束の形態異常や形成不全が見られ、また、毛根によっては毛母細胞の変性ないし分裂異常を示唆する所見が見られた。毛母の異常で、一定間隔でケラチン線維形成が不全な毛皮質細胞が作られるものと推測した¹³⁾。その後、連珠毛では、毛ケラチン線維を構成する hair basic (type II) keratin 1 または 6 の遺伝子変異が証明された¹⁴⁾ が、ケラチン線維形成不全が如何にして一定間隔で起こるのかは説明できていない。また、最近、我々が経験した連珠毛様の変化を示す症例では、ケラチン遺伝子ではなく、desmoglein 4 の遺伝子異常が証明され¹⁵⁾、連珠毛の成因は種々あるかもしれない。

毛器官の新規構成分子

当教室では、毛器官の未知の構成分子を明らか

にすることも hair biology 研究の1テーマとしてきた。上述の抗ヒト毛ケラチン MoAb 作製はその手始めであった⁴⁾。続いて、毛ケラチン蛋白の性状を解析する目的で、抽出したケラチン蛋白を等電点と分子量による二次元電気泳動法を行ったところ、毛ケラチン線維構成蛋白の分画と線維間物質の分画を平面上でポリペプチドスポット群として明瞭に分けることができた¹⁶⁾。前者は、表皮ケラチン線維蛋白と同様に、好酸性 (タイプ I) と好塩基性 (タイプ II) の2群に分かれるが、分子量は表皮のそれとほぼ同等であった¹⁶⁾。この分画は、ハードケラチンと呼ばれていたもので、表皮ケラチンなどのソフトケラチンに比して、cysteine/cysteine 含有量の多いものである。後者は、ケラチン線維蛋白よりかなり低分子量だが、やはり好酸性と好塩基性の2群に分けられ、しかも等電点として広い範囲に分布していることが判明した¹⁶⁾。その後、マウスを用いて、毛器官分子の cDNA を取り、differential hybridization 法により、成長期と休止期での発現の相異を検討する研究を行った。その結果、毛ケラチン分画として新たな high-glycine/tyrosine proteins を見出し、しかも、その分画のサブクラスの発現様式が、第1毛周期と第2毛周期では異なることがわかった¹⁷⁾。すなわち、同じ毛器官でも、毛周期により毛髪質が異なることを意味している。同様の方法論で、成長期毛器官に特異的な蛋白である mKAP13 (KAP; ケラチン関連蛋白) の存在¹⁸⁾、あるいは、*sh3yl1* 遺伝子発現¹⁹⁾ を発見した。さらに、成長期内毛根鞘に μ -crystallin (thyroid hormone-binding protein) が豊富に存在し²⁰⁾、タイプ II ケラチンである mK6irs が産生される²¹⁾ ことがわかった。その後、遺伝子解析によるヒト毛器官の分子や遺伝子の研究に移り、high-sulfur 蛋白である hKAP1.6 および hKAP1.7 の存在²²⁾、すでに知られている KAP1²³⁾²⁴⁾ や KAP4²⁵⁾ の多様性を見出した。さらには、毛母・毛皮質角化帯にタイプ II 毛ケラチン K85²⁶⁾、Huxley 層にタイプ II 上皮ケラチン K74²⁷⁾、毛乳頭・毛母・角化帯毛皮質・毛小皮に *Wnt* inhibitor である APCDD1²⁸⁾、毛母・外毛根鞘最外層に細胞接着分子である

P-cadherin²⁹⁾, Huxley 層・Henle 層に G protein-coupled receptor である LPA6/P2Y5³⁰⁾, あるいは毛母・角化帯毛皮質・毛小皮・Huxley 層に phospholipase A1 である lipase H³¹⁾ が発現することを明らかにした。

遺伝性毛髪異常症に関する最近の研究

一方, 以上の毛器官における構成分子や発現遺伝子の解析は, 遺伝性毛髪異常症の病態解析にも成果を挙げている。あるいは, それら疾患の関連遺伝子を解析することにより, 毛器官の分子や遺

表1 当教室における遺伝性毛髪異常症の病態解析成果

遺伝性毛髪異常症	原因 遺伝子	蛋白 (機能)	毛器官での 発現部位	参考 文献
Autosomal recessive monilethrix (常染色体劣性連珠毛)	<i>DSG4</i>	Desmoglein 4	HM、kCo、 HC	15)
Ectodermal dysplasia, ectrodactyly, macular dystrophy syndrome (EEM 症候群)	<i>CDH3</i>	P-cadherin	HM、ORS	29)
Autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis (常染色体劣性縮毛症・乏毛症)	<i>P2RY5</i> <i>LIPH</i>	LPA6 (LPA 受容体) PA-PLA1 α (LPA 合成酵素)	IRS IRS、kCo、 HC	30) 31)
Autosomal dominant woolly hair/hypotrichosis (常染色体優性縮毛症・乏毛症)	<i>KRT74</i> <i>KRT71</i>	Keratin 74 Keratin 71	IRS IRS	27) 32)
Hypotrichosis simplex (単純型乏毛症)	<i>APCDD1</i>	APCDD1 (Wnt inhibitor)	HM、kCo、 HC、HDP	28)
Pure hair & nail ectodermal dysplasia (毛髪・爪限局型外胚葉形成不全症)	<i>KRT85</i> <i>HOXC13</i>	Keratin 85 HOXC13 (転写因子)	HM、kCo、 HC	26) 33)

Co; 毛皮質、HC; 毛小皮、HDP; 毛乳頭、HM; 毛母、IRS; 内毛根鞘、kCo; 角化帯毛皮質、
ORS; 外毛根鞘

伝子が明らかとなり、それらの機能や意義が判明している。毛髪異常症の面から、成果をまとめると表1のごとくとなる。

結 語

以上のごとく、毛髪奇形を診断し、その病態を検討するには、形態学的所見が重要で、とくに電顕による微細構造観察は不可欠である。近年、一足飛びに分子や遺伝子の異常が証明され、あたかも遺伝性毛髪異常症の病態がすべて解明されたかのように考えがちであるが、それらの異常がどのようにして毛髪に異常な形態変化を生じさせるのかという病態メカニズムは、未だに新しい課題と言える。毛器官研究は、形態の複雑性や毛周期による形態変化などで、研究しにくいテーマであった。一方、表皮研究であれば、表皮は観察しやすく、実験も容易であり、その研究施設も多い。実際に、近年の分子生物学や遺伝子学の研究方法の著明な進歩により、この10～20年余りで先天性表皮水疱症や遺伝性角化症など表皮の遺伝性疾患はかなり病態解明が進んできた。それに比べれば、遺伝性毛髪疾患の研究はまだまだきわめて多くの多彩な研究テーマがあり、皮膚科学において毛器官を扱える当教室の役割はきわめて大きく、発展性があるものと考えている。

文 献

- 1) Ito M and Hashimoto K: Trichohyaline granules in hair cortex. *J Invest Dermatol* 79: 392 - 398, 1982.
- 2) Ito M and Hashimoto K: Hair abnormalities. In: *Electron Microscopy in Human Medicine*, vol 11 (a), the Skin, Johannessen JV ed, McGraw - Hill, New York, pp229 - 273, 1985.
- 3) Ito M: Unusual distribution of melanocytes in hair bulbs from a Negro subject. *Arch Dermatol Res* 283: 274 - 277, 1991.
- 4) Ito M, Tazawa T, Shimizu N, Ito K, Katsuumi K, Sato Y and Hashimoto K: Cell differentiation in human anagen hair and hair follicles studied with anti - hair keratin monoclonal antibodies. *J Invest Dermatol* 86: 563 - 569, 1986.
- 5) Ito M: Electron microscopic study on cell differentiation in anagen hair follicles in mice. *J Invest Dermatol* 90: 65 - 72, 1988.
- 6) Ito M: Biologic roles of the innermost cell layer of the outer root sheath in human anagen hair follicle: further electron microscopic study. *Arch Dermatol Res* 281: 254 - 259, 1989.
- 7) Ito M and Sato Y: Dynamic ultrastructural changes of the connective tissue sheath of human hair follicles during hair cycle. *Arch Dermatol Res* 282: 434 - 441, 1990.
- 8) 伊藤雅章, 佐藤良夫: 毛周期. 人体組織学, 小川和朗ほか編, 朝倉書店, 東京, pp313 - 323, 1984.
- 9) Ito M, Ito K and Hashimoto K: Pathogenesis in trichorrhexis invaginata (bamboo hair). *J Invest Dermatol* 83: 1 - 6, 1984.
- 10) Chavanas S, Bodemer C, Rochat A, Hamel - Teillac D, Ali M, Irvine AD, Bonafé JL, Wilkinson J, Taïeb A, Barrandon Y, Harper JJ, de Prost Y and Hovnanian A: Mutations in *SPINK5*, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. *Nat Genet* 25: 141 - 142, 2000.
- 11) Shimomura Y, Sato N, Kariya N, Takatsuka S and Ito M: Netherton syndrome in two Japanese siblings with a novel mutation in the *SPINK5* gene: immunohisto - chemical studies of LEKTI and other epidermal molecules. *Br J Dermatol* 153: 1026 - 1030, 2005.
- 12) Ito M, Hashimoto K and Yorder FW: Monilethrix: An ultrastructural study. *J Cutan Pathol* 11: 513 - 521, 1984.
- 13) Ito M, Hashimoto K, Katsuumi K and Sato Y: Pathogenesis of monilethrix: Computer stereography and electron microscopy. *J Invest Dermatol* 95: 186 - 194, 1990.
- 14) Korge BP, Healy E, Munro CS, Punter C, Birch - Machin M, Holmes SC, Darlington S, Hamm H, Messenger AG, Rees JL and Traupe H: A mutational hotspot in the 2B domain of human hair basic keratin 6 (hHb6) in monilethrix patients. *J Invest Dermatol* 111: 896 - 899, 1998.
- 15) Shimomura Y, Sakamoto F, Kariya N, Matsunaga

- K and Ito M: Mutations in the desmoglein 4 gene are associated with monilethrix - like congenital hypotrichosis. *J Invest Dermatol* 126: 1281 - 1285, 2006.
- 16) Katsuumi K, Ito M, Kazama T and Sato Y: Two - dimensional electrophoretic analysis of human hair keratins, especially hair matrix proteins. *Arch Dermatol Res* 281: 495 - 501, 1989.
 - 17) Aoki N, Ito K and Ito M: Isolation and characterization of mouse high - glycine/tyrosine proteins. *J Biol Chem* 272: 30512 - 30518, 1997.
 - 18) Aoki N, Ito K and Ito M: Hair follicle has a novel anagen - specific protein, mKAP13. *J Invest Dermatol* 111: 804 - 809, 1998.
 - 19) Aoki N, Ito K and Ito M: A novel mouse gene, sh3yl1, is expressed in the anagen hair follicle. *J Invest Dermatol* 114: 1050 - 1056, 2000.
 - 20) Aoki N, Ito K and Ito M: μ - Crystallin, thyroid hormone - binding protein, is expressed abundantly in the murine inner root sheath cells. *J Invest Dermatol* 115: 402 - 405, 2000.
 - 21) Aoki N, Sawada S, Rogers MA, Schweizer J, Shimomura Y, Tsujimoto T, Ito K and Ito M: A novel type II cytokeratin, mk6irs, is expressed in the Huxley and Henle layers of the mouse inner root sheath. *J Invest Dermatol* 116: 359 - 365, 2001.
 - 22) Shimomura Y, Aoki N, Rogers MA, Langbein L, Schweizer J and Ito M: hKAP1.6 and hKAP1.7, two novel human high sulfur keratin - associated proteins are expressed in the hair follicle cortex. *J Invest Dermatol* 118: 226 - 231, 2002.
 - 23) Shimomura Y, Aoki N, Schweizer J, Langbein L, Rogers MA, Winter H and Ito M: Polymorphisms in the human high sulfur hair keratin - associated protein 1, KAP1, gene family. *J Biol Chem* 277: 45493, 2002.
 - 24) Shimomura Y, Aoki N, Rogers MA, Langbein L, Schweizer J and Ito M: Characterization of human keratin - associated protein 1 family members. *J Invest Dermatol Sym Pro* 8: 96, 2003.
 - 25) Kariya N, Shimomura Y and Ito M: Size polymorphisms in the human ultrahigh sulfur hair keratin - associated protein 4, KAP4, gene family. *J Invest Dermatol* 124: 1111 - 1118, 2005.
 - 26) Shimomura Y, Wajid M, Kurban M, Sato N and Christiano AM: Mutations in the keratin 85 (KRT85/hHb5) gene underlie pure hair and nail ectodermal dysplasia. *J Invest Dermatol* 130: 892 - 895, 2010.
 - 27) Shimomura Y, Wajid M, Petukhova L, Kurban M and Christiano AM: Autosomal - dominant woolly hair resulting from disruption of keratin 74 (KRT74), a potential determinant of human hair texture. *Am J Hum Genet* 86: 632 - 638, 2010.
 - 28) Shimomura Y, Agalliu D, Vonica A, Luria V, Wajid M, Baumer A, Belli S, Petukhova L, Schinzel A, Brivanlou AH, Barres BA and Christiano AM: PCDD1 is a novel Wnt inhibitor mutated in hereditary hypotrichosis simplex. *Nature* 464: 1043 - 1047, 2010.
 - 29) Shimomura Y, Wajid M, Shapiro L and Christiano AM: P - cadherin is a p63 target gene with a crucial role in the developing human limb bud and hair follicle. *Development* 135: 743 - 753, 2008.
 - 30) Shimomura Y, Wajid M, Ishii Y, Shapiro L, Petukhova L, Gordon D and Christiano AM: Disruption of P2RY5, an orphan G protein - coupled receptor, underlies autosomal recessive woolly hair. *Nat Genet* 40: 335 - 339, 2008.
 - 31) Shimomura Y, Wajid M, Zlotogorski A, Lee YJ, Rice RH and Christiano AM: Founder mutations in the lipase h gene in families with autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis. *J Invest Dermatol* 129: 1927 - 1934, 2009.
 - 32) Fujimoto A, Farooq M, Fujikawa H, Inoue A, Ohyama M, Ehama R, Nakanishi J, Hagihara M, Iwabuchi T, Aoki J, Ito M and Shimomura Y: A missense mutation within the helix initiation motif of the keratin K71 gene underlies autosomal dominant woolly hair/hypotrichosis. *J Invest Dermatol* 132: 2342 - 2349, 2012.
 - 33) Farooq M, Kurban M, Fujimoto A, Fujikawa H, Abbas O, Nemer G, Saliba J, Sleiman R, Tofaili M, Kibbi AG, Ito M and Shimomura Y: A homozygous frameshift mutation in the HOXC13 gene underlies pure hair and nail ectodermal dysplasia in a Syrian family. *Hum Mutat* 34: 578 - 581, 2013.