

毛包幹細胞から考える薬剤性脱毛症の病態

天羽 康之

北里大学医学部皮膚科学

薬剤性脱毛症には、抗腫瘍剤による成長期脱毛症、薬剤によって引き起こされる休止期脱毛症などがある。特に抗腫瘍剤による脱毛症は、抗腫瘍剤治療を受ける患者に大きな不安を引き起こす重大な副作用の一つである。我々はネスチン遺伝子のプロモーターとsecond intronの間に緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein [GFP]) を組み込んだトランスジェニックマウス (ネスチン-GFP-Tgマウス) を用いて、抗腫瘍剤による成長期脱毛症の病態を明らかにするための研究を行った。その結果、抗腫瘍剤による成長期脱毛症が、毛包幹細胞から毛根鞘細胞への分化と増殖の抑制と、毛包成長期の血管増殖の抑制によって引き起こされることが明らかになった。ネスチンはclass IVの中間径フィラメントで、神経系幹細胞の重要なマーカーの一つである。我々は、毛包バルジ領域上部の毛包幹細胞領域 (hair follicle pluripotent stem [hfPS] cell area [hfPSCA]) に分布する毛包幹細胞がネスチンを強く発現していること、さらに毛包幹細胞領域のネスチンを発現する毛包幹細胞周囲に栄養を供給するため、毛包幹細胞を中心にネットワークを形成している真皮血管網もネスチンを強く発現しており、毛周期に伴って血管新生を誘導し、毛包再生に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本稿では、抗腫瘍剤による成長期脱毛症と、薬剤によって引き起こされる休止期脱毛症の病態について、最新の知見を紹介する。

Key words: 薬剤性脱毛症, 毛包幹細胞, 血管新生, ネスチン, 抗腫瘍剤

はじめに

最近、我々はネスチン遺伝子のプロモーターと第2イントロンの間にGFPを組み込んだトランスジェニックマウス (ネスチン-GFP-Tgマウス) を用いた実験で、皮膚毛包幹細胞がネスチンを強く発現していることが明らかになった。ネスチンはclass IVの中間径フィラメントで、中脳などの中枢神経の神経系幹細胞に強く発現しており、神経系幹細胞の重要なマーカーとして注目されている。近年、中脳由来、ネスチン陽性の神経系幹細胞が神経組織の再生に重要な役割を果たすことが明らかにされている。ネスチンを発現する毛包幹細胞は毛包脂腺直下、毛包バルジ領域上部の毛包幹細胞領域 (hair follicle pluripotent stem [hfPS] cell area [hfPSCA]) に分布しており、毛周期に伴って毛包幹細胞の一部が分裂をはじめ、下方に増殖して毛包が形成される¹。さらに毛包幹細胞領域のネスチンを発現する毛包幹細胞に連結する真皮血管網もネスチンを強く発現しており、毛周期に伴って血管新生を誘導し、毛包再生に重要な役割を果たす^{1,7}。ネスチンという幹細胞マーカーが発見されたことにより、初めて毛包幹細胞の正確な分布と毛包幹細胞による強力な血管新生の制御の仕組みが

明らかにされた。ネスチンを発現する毛包幹細胞は、毛包や表皮の再生^{1,3}の他に、真皮血管網を毛周期に応じて制御している^{6,7}。

我々は、ネスチン-GFP-Tgマウスを用いた実験で、塩酸ドキシソルビシンなどの抗腫瘍剤による成長期脱毛が、毛包幹細胞への直接的な増殖抑制と真皮血管網に対する毛包成長期の血管増殖抑制によることを明らかにした⁷。本稿では、抗腫瘍剤による成長期脱毛症を中心に薬剤性脱毛症についての最新の知見を紹介する。

ネスチンを発現する毛包幹細胞と真皮血管網

我々は、ネスチン遺伝子のプロモーターと第2イントロンの間にGFPを組み込んだトランスジェニックマウス (ネスチン-GFP-Tgマウス) を用いて、皮膚毛包幹細胞にネスチンが発現していることを発見した。さらに我々は、毛包バルジ領域上部の毛包幹細胞領域 (hfPSCA) のネスチンを発現する毛包幹細胞に連結する真皮血管網にもネスチンが強く発現しており、毛周期に伴って血管新生を誘導し、毛包再生に重要な役割を果たしていることを明らかにした^{6,7}。今まで毛包幹細胞がbulge areaにあることは予測されていたものの、特

異的なマーカーが明らかにされず、毛包幹細胞の性質には不明な点が多かった。しかし、これらの実験の結果、初めて毛包幹細胞の正確な分布と毛包幹細胞による強力な血管新生の制御の仕組みが明らかになった^{6,7}。ネスチンを発現する毛包幹細胞は、生体内では毛包や表皮の再生の他に、真皮血管網を毛周期に応じて制御している^{6,9}。

また、毛包幹細胞領域に分布する毛包幹細胞の多分化能を明らかにするため、ネスチン-GFP-Tgマウスの髭毛包と背部皮膚の毛包からネスチン-GFPを発現する毛包幹細胞の分離培養が行われ、ネスチン-GFPを発現する毛包幹細胞は神経細胞、グリア細胞(アストロサイト、オリゴデンドロサイト)、ケラチノサイト、平滑筋細胞、メラノサイトに分化することが明らかにされた^{2,3}。さらに、この毛包幹細胞のコロニーを皮下組織や切断した末梢神経間に移植し、*in vivo*でも神経細胞やグリア細胞に分化することも確認されている^{4,5}。

抗腫瘍剤の成長期脱毛は毛包幹細胞と真皮血管網に対する増殖抑制作用による。

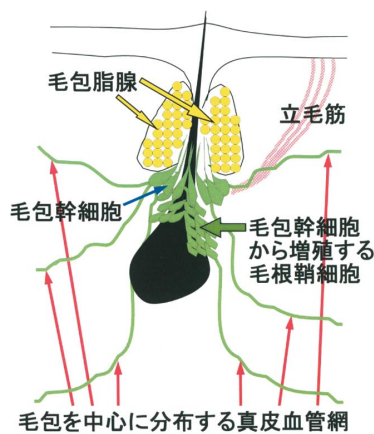
Anagen effluvium (成長期脱毛症) は、悪性腫瘍への抗腫瘍剤による化学療法や放射線療法¹⁰、その他 colchicine, タリウム, 水銀, 銅などの重金属, boric acid (ホウ酸), ヒ素などによって成長期における毛包細胞の増殖分化が抑制され、傷害された成長期毛が抜けて、1~3週間後と比較的急性に頭部のびまん性脱毛を引き起こす(表1)。残存する毛のほとんどは傷害されずに残った休止期毛である。近年、抗腫瘍剤による脱毛症のマウスやラットの動物モデルを用いた研究が進ん

でいて、特にシクロホスファミドや塩酸ドキシソルピシンによる脱毛機序が次第に明らかにされてきている。シクロホスファミドによる脱毛では、毛乳頭周囲の毛包細胞にアポトーシスを起こした細胞が認められる。最近、毛乳頭の周囲の毛包細胞に発現したFasとFas ligandを介したp53依存性のアポトーシスが、抗腫瘍剤による脱毛に重要な役割を果たすことが明らかにされた^{11,12}。シクロホスファミドによる成長期脱毛症の動物モデルにFas ligandの中和抗体を投与したり、またはFasノックアウトマウスにシクロホスファミドを投与すると、いずれの実験系でもFasとFas ligandを介したp53依存性のアポトーシスが起これないため休止期毛の割合は減少する¹¹。その他に、シクロホスファミドによる脱毛がparathyroid hormone (PTH) related peptide (PTHrP) のアンタゴニストによって軽減され、PTHのアゴニストによって悪化することが報告されている¹³。また、シクロホスファミドは皮膚のc-kit ligandやstem cell factorの発現を亢進し、c-kitによる伝達経路を介して色素沈着を起こすことも明らかにされている¹⁴。Selleriら¹⁵は塩酸ドキシソルピシンによる成長期脱毛において脂腺細胞の増殖抑制やアポトーシスが起これる事に注目しており、これが脱毛症でみられる皮膚の乾燥を引き起こすと考えている。毛包幹細胞は脂腺細胞に分化する能力も備えており¹⁶⁻¹⁹、塩酸ドキシソルピシンは毛包幹細胞から脂腺細胞への分化増殖を抑制していると考えられる。さらに、epidermal growth factor receptor (EGFR) の作用に注目した研究も行われている²⁰。表皮基底層や外毛根鞘細胞においてEGFRの優位抑制型変異体 (dominant negative mutant) を発現させたマウスでは、短くウェーブした毛となり、成長期から退行期を

表1. 成長期脱毛症の原因

- ・ 悪性腫瘍への抗腫瘍剤による化学療法 (doxorubicin, cyclophosphamide ほか)
- ・ 放射線療法
- ・ Colchicine
- ・ タリウム, 水銀, 銅などの重金属
- ・ Boric acid (ホウ酸)
- ・ ヒ素
- ・ Loose anagen syndrome ほか

Control (生理食塩水投与)



Doxorubicin投与

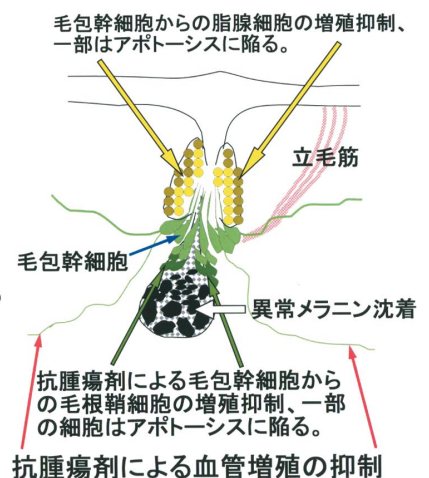


図1. 塩酸ドキシソルピシンは毛包幹細胞から毛根鞘細胞への分化増殖抑制(右図の緑矢印)のみでなく、毛包周囲の新生血管の増殖抑制(右図の赤矢印)による栄養供給障害によって脱毛を起こす。また毛包幹細胞から脂腺細胞への分化増殖も抑制される(右図の黄矢印)。

経ずに毛包細胞が壊死して全身性の脱毛を生じる²⁰。最近、臨床的にもGefitinib (epidermal growth factor受容体の阻害剤) による、癒痕を伴わない炎症性の脱毛症の症例が報告されている²¹。

我々は、ネスチン-GFP-Tgマウスを用いた実験で、塩酸ドキシソルピシンによる成長期脱毛での毛包幹細胞や真皮血管網に対する作用を検討した⁷。ネスチン-GFP-Tgマウスに塩酸ドキシソルピシン5 μ g/gを、背部の毛を抜毛した日から1日1回3日間連続で腹腔内投与し、抜毛の7日後と12日後に毛包幹細胞からの毛根鞘細胞増殖を観察したところ、塩酸ドキシソルピシンを投与したマウスは毛包幹細胞からの毛根鞘細胞増殖が生理食塩水を加えたマウスと比較して有意に抑制されていた。さらに、抜毛の12日後に、ネスチン-GFPを発現する真皮内の未熟な新生血管の密度を計測したところ、塩酸ドキシソルピシンを投与したマウスは生理食塩水を加えたマウスと比較して真皮内新生血管の増殖が有意に抑制されていた。この実験で、塩酸ドキシソルピシンなどの抗腫瘍剤による成長期脱毛が、毛包幹細胞への直接的な増殖抑制のみでなく、真皮血管網に対する毛包成長期の血管増殖抑制による栄養供給の低下が重要な役割を果たしていることが明らかになった⁷ (図1)。

休止期脱毛症の発症機序の解明

Telogen effluvium (休止期脱毛症) は薬剤性、HIV感染症、高熱、脊髄損傷などの外傷、手術、出産後、栄養障害、甲状腺機能低下、鉄欠乏性貧血、亜鉛欠乏症、接触皮膚炎、精神性ストレス、悪性リンパ腫、アンドロゲン性脱毛症発症時などによって起こる(表2)。急性の休止期脱毛症ではこれらの病因にさらされて約2~4か月後に成長期毛の発育が抑制され、退行期を経て休止期毛が15%以上(正常状態の休止期毛は、頭毛全

体の約10%を占める)を占めるようになり全頭性の均一な休止期脱毛症を引き起こす。脱毛は数か月間持続する。また病因が明らかにされていない慢性の休止期脱毛症は30~60歳の女性に多くみられ、数年間持続する。休止期脱毛症の病理組織像は休止期毛が著明に増加し、炎症反応はわずかで、毛包のミニチュア化を伴わないことが特徴である。休止期脱毛症のマウスを用いた動物モデルとしてはtransforming growth factor β 1 (TGF- β 1) やneuropeptide substance Pの作用に注目した研究が行われている^{22,23}。TGF- β 1は毛周期においてbulge area (毛隆起)の細胞に発現しており、TGF- β 1はTGF- β type II受容体を発現する外毛根鞘細胞に結合してアポトーシスを引き起こし、退行期を経て毛包を休止期に誘導することが明らかにされた²²。これらの結果から、TGF- β 1は休止期脱毛症において重要な役割を果たしていると考えられる。TGF- β 1はアンドロゲンの存在下にケラチノサイトの増殖を抑制することから、アンドロゲン性脱毛症(男性型脱毛症)の発症にも関与していると考えられる。また、ストレスにより毛包周囲の神経線維から分泌されたneuropeptide substance Pが、受容体と反応して毛包細胞のアポトーシスを引き起こし、休止期に誘導して休止期脱毛症を起こすことも明らかにされている²³。

薬剤性の休止期脱毛症

休止期脱毛症は多くの種類の薬剤によって引き起こされることが明らかにされている。薬剤性休止期脱毛症の原因薬として、高脂血症治療薬(clofibrate, triparanol), angiotensin-converting enzyme阻害剤(captopril, enalapril), パーキンソン病治療薬(levodopa), 消化性潰瘍治療薬(cimetidineなど), 抗血栓剤(heparin, dextranなど), 痛風治療薬(allopurinol), 非ステロイド系抗炎症薬, ビタミンA, ビタミンA誘導体

表2. 休止期脱毛症の原因

薬剤性	外傷、ストレス性
抗腫瘍剤	HIV感染症
高脂血症治療薬	高熱
パーキンソン病治療薬	脊髄損傷などの外傷
消化性潰瘍治療薬	手術
抗血栓剤	栄養障害
痛風治療薬	精神性ストレス
非ステロイド系抗炎症薬	
ビタミンA、ビタミンA誘導体	その他
抗てんかん薬	アンドロゲン性脱毛症発症時
抗うつ薬	出産後脱毛症
β ブロッカー	接触皮膚炎
抗甲状腺薬	甲状腺機能低下
経口避妊薬などのホルモン剤	鉄欠乏性貧血
ほか	悪性リンパ腫

文 献

(retinoids), 抗てんかん薬, 抗うつ薬, β ブロッカー (propranololなど), minoxidil, 金製剤, 抗甲状腺薬 (propylthiouracilなど), terfenadine, 経口避妊薬などのホルモン剤, 免疫グロブリン療法, インターフェロン α , γ などが知られている(表2)。これらの薬剤は成長期毛の発育を抑制し, 退行期を経て休止期毛が増加して休止期脱毛症を引き起こす。高脂血症治療薬による脱毛は, 毛包細胞の細胞膜構成成分となる脂質合成阻害によるkeratinizationの障害や, ホルモン合成阻害作用が原因と考えられている。スタチン系の高脂血症治療薬による脱毛は, 主に高齢の閉経後の女性に発症し, まれに男性や若年者の発症もみられる。また, ビタミンA誘導体の過剰摂取による脱毛ではケラチン合成阻害が原因と考えられている。ヘパリンなどのglycosaminoglycansはマウスの毛乳頭細胞や表皮細胞の増殖を抑制すること, リチウムはヨードに類似した作用を示し, 甲状腺からのホルモン性または非ホルモン性のヨード産生を抑制して脱毛を起こすことが明らかにされている²⁴。また, 経口避妊薬などのホルモン剤の使用による休止期脱毛症は, ホルモン環境の急激な変化によって下垂体でのACTHなど下垂体ホルモンの分泌が促進し, 副腎アンドロゲンなどのホルモンが増加する。その結果, 特に軽度のアンドロゲン性脱毛症を持つ患者で, 成長期毛包が退行期を経て休止期に移行して休止期脱毛症を引き起こすと考えられている。

抗腫瘍剤による成長期脱毛症も休止期脱毛症の1つと捉える考えもある。細胞傷害性を有する抗腫瘍剤による脱毛では, アポトーシスにより傷害された成長期毛包のみでなく, アポトーシスを起こして休止期に移行する毛包も見られることから, 成長期脱毛症というよりも萎縮性休止期脱毛症 (atrophic telogen effluvium) と呼ぶべきだとする考えである²⁵。萎縮性休止期脱毛症は毛包の休止期への移行と, 毛幹基部の萎縮を特徴とする。萎縮性休止期脱毛症に対するcalcipotriolなどのビタミンD誘導体の外用は, 動物モデルでは脱毛の予防効果があるとする報告があるが²⁶, 実際の患者頭部への外用では明らかな予防効果は認められていない^{25,27}。休止期脱毛症やアンドロゲン性脱毛症の治療には, finasterideとminoxidilの併用が有効とされている (finasterideとminoxidilはいずれも単独での治療効果はわずかしら認められない)²⁸。脱毛症を引き起こす可能性のある薬剤は多いが, 原因が薬剤であることを見逃されている症例が少なくないと思われ, 脱毛症患者を診察する時は注意深い薬剤使用歴の問診と原因薬剤の使用中止, 減量などの対処が重要である。

上記の抗腫瘍剤による成長期脱毛症に関する研究は, カリフォルニア大学San Diego校外科学教室, Anticancer, Inc.のRobert M. Hoffman教授, Anticancer, Inc.のLingna Li先生らとの共同研究によるものである。

1. Li L, Mignone J, Yang M, et al. Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 9958-61.
2. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 5530-4.
3. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Hoffman. Multipotent nestin-expressing hair follicle stem cells. *J Dermatol* 2009; 36: 1-9.
4. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells which support repair of severed peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 17734-8.
5. 天羽 康之, Li L, 勝岡 憲生, 他. 毛包幹細胞の損傷組織修復能—毛包幹細胞は末梢神経損傷部の再生を促進する—. *皮膚病診療* 2006; 28: 785-90.
6. Amoh Y, Li L, Yang M, et al. Nascent blood vessels in the skin arise from nestin-expressing hair-follicle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 13291-5.
7. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al. Chemotherapy targets the hair-follicle vascular network but not the stem cells. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 11-5.
8. Yano K, Brown LF, Detmar M. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest* 2001; 107: 409-17.
9. Mecklenburg L, Tobin DJ, Müller-Röver S, et al. Active hair growth (anagen) is associated with angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 909-16.
10. Pearson RW, Malkinson FD. Ultrastructural changes in rat vibrissae following irradiation. *J Invest Dermatol* 1969; 53: 95-106.
11. Sharov AA, Siebenhaar F, Sharova TY, et al. Fas signaling is involved in the control of hair follicle response to chemotherapy. *Cancer Res* 2004; 64: 6266-70.
12. Hendrix S, Handjiski B, Peters EM, et al. A guide to assessing damage response pathways of the hair follicle: lessons from cyclophosphamide-induced alopecia in mice. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 42-51.
13. Peters EM, Foitzik K, Paus R, et al. A new strategy for modulating chemotherapy-induced alopecia, using PTH/PTHrP receptor agonist and antagonist. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 173-8.
14. Sharov AA, Li GZ, Palkina TN, et al. Fas and c-kit are involved in the control of hair follicle melanocyte apoptosis and migration in chemotherapy-induced hair loss. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 27-35.
15. Selleri S, Seltmann H, Gariboldi S, et al. Doxorubicin-induced alopecia is associated with sebaceous gland degeneration. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 711-20.
16. Oshima H, Rochat A, Kedzia C, et al. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell* 2001; 104: 233-45.
17. Morris RJ, Liu Y, Marles L, et al. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 411-7.
18. Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, et al. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 2004; 118: 635-48.
19. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1459-68.
20. Murillas R, Larcher F, Conti CJ, et al. Expression of a dominant negative mutant of epidermal growth factor receptor in the epidermis of transgenic mice elicits striking alterations in hair follicle development and skin structure. *EMBO J* 1995; 14: 5216-23.

21. Graves JE, Jones BF, Lind AC, et al. Nonscarring inflammatory alopecia associated with the epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: 349-53.
22. Foitzik K, Lindner G, Mueller-Röever S, et al. Control of murine hair follicle regression (catagen) by TGF- β 1 *in vivo*. *FASEB J* 2000; 14: 752-60.
23. Arck PC, Handjiski B, Peters EM, et al. Stress inhibits hair growth in mice by induction of premature catagen development and deleterious perifollicular inflammatory events via neuropeptide substance P-dependent pathways. *Am J Pathol* 2003; 162: 803-14.
24. Olsen EA. Disorders of hair growth -Diagnosis and treatment-. Fiedler VC, Hafeez A. Chapter 10: *Diffuse alopecia telogen hair loss*. McGraw-Hill, Inc. Health Professor Division: New York; 1994; 241-55.
25. Bleiker TO, Nicolaou N, Traulsen J, et al. 'Atrophic telogen effluvium' from cytotoxic drugs and a randomized controlled trial to investigate the possible protective effect of pretreatment with a topical vitamin D3 analogue in humans. *Br J Dermatol* 2005; 153: 103-12.
26. Jimenez JJ, Yunis AA. Protection from chemotherapy-induced alopecia by 1,25-dihydroxyvitamine D₃. *Cancer Res* 1992; 52: 5123-5.
27. Paus R, Schilli MB, Handjiski B, et al. Topical calcitriol enhances normal hair regrowth but does not prevent chemotherapy-induced alopecia in mice. *Cancer Res* 1996; 56: 4438-43.
28. Tosti A, Iorizzo M, Vincenzi C. Finasteride treatment may not prevent telogen effluvium after minoxidil withdrawal. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1221-2.

Chemotherapy-induced alopecia is caused by the disruption of the hair-follicle-associated blood vessel network

Yasuyuki Amoh

Department of Dermatology, Kitasato University School of Medicine

Some medications are known to cause hair loss by a variety of mechanisms including anagen arrest, telogen effluvium, or accentuation of androgenetic alopecia by androgens. Especially, chemotherapy-induced alopecia is a major problem in clinical oncology. Doxorubicin, a widely used cancer chemotherapy drug, induces disruption of the hair cycle and subsequent alopecia. Visualization of the effect of doxorubicin on hair-follicle angiogenesis was made possible by the use of transgenic mice in which green fluorescent protein was driven by regulatory elements of the nestin gene (ND-GFP). In these transgenic mice, the hair-follicle stem cells and the follicle structure as well as the blood vessels associated with the hair follicles express ND-GFP. Previously, we certified that nestin, the neural stem cell marker protein, is expressed in hair follicle stem cell (hfPSC) area (hfPSCA) above the bulge area (bulge area is keratin-15 [K15]-positive keratinocyte progenitor cell area). Nestin-positive hair follicle pluripotent stem cells (hfPSC) isolated from the hair follicle pluripotent stem cell area (hfPSCA) that are negative for the keratinocyte marker K15 can differentiate into neurons, glia, keratinocytes, smooth muscle cells, and melanocytes *in vitro*. We showed that doxorubicin caused disruption of the hair-follicle-associated blood vessel network resulting in a greatly reduced density of these blood vessels. Dystrophic hair follicles were also observed with abnormal melanogenesis in the mice treated with doxorubicin. Moreover, we showed that the hair-follicle stem cells did not appear to be affected by doxorubicin. These results suggest that inhibition of hair-follicle-associated angiogenesis by doxorubicin may be an important factor in hair-follicle dystrophy associated with chemotherapy-induced alopecia.

Key words: chemotherapy-induced alopecia, hair follicle stem cell area, nestin, doxorubicin