



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Dual origin of melanocytes defined by Sox1 expression and their region-specific distribution in mammalian skin(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	清瀬, 直子
Report No.(Doctoral Degree)	博士(再生医科学) 甲第928号
Issue Date	2013-09-11
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/47816

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	清瀬直子（兵庫県）
学位の種類	博士（再生医科学）
学位授与番号	甲第 928 号
学位授与日付	平成 25 年 9 月 30 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Dual origin of melanocytes defined by Sox1 expression and their region-specific distribution in mammalian skin
審査委員	(主査) 教授 千田 隆 夫 (副査) 教授 大沢 匡 毅 教授 森 重 健一郎

論文内容の要旨

メラノサイトはメラニン色素を合成する機能を担った細胞であり、個体発生時に生じる神経堤細胞に由来すると考えられている。従来、背外側の体節に沿って移動する神経堤細胞がメラノサイトの起源であると考えられてきたが、近年、腹側体節に沿って移動するシュワン細胞からメラノサイトが生じるという新たな説が提唱されており、メラノサイトの起源については明らかにされていない。本研究では、メラノサイトの起源を明らかにすることを目的とし、遺伝子改変マウスによって細胞の運命を追跡する手法を活用することによって、個体発生時におけるメラノサイトの起源を調べた。その結果、メラノサイトには少なくとも 2 種類以上の異なる起源が存在することが示唆された。

【対象と方法】

- ① マーカー分子によって神経管由来細胞を特異的に標識するために、*Sox1-Cre* マウスと *Rosa26R-EYFP* マウスを掛け合わせ *Sox1-Cre;Rosa26R-EYFP* マウス (*Sox1-Cre/YFP*) を作成した。
- ② *Sox1-Cre/YFP* マウスを用いて、メラノサイトの細胞表面マーカー分子である Kit を発現する細胞を FACS によって単離し、ST2 細胞上で培養することによりメラノサイトへの分化能の有無を検討した。
- ③ *Sox1-Cre/YFP* マウス胎児から胎児神経管を分離し、器官培養を行った。培養後、神経管から遊走した細胞について YFP の発現の有無を調べた。
- ④ マウス胎児切片について、メラノサイト系譜の細胞特異的に発現する DCT を認識する抗体を用いて免疫組織染色を行い、メラノサイトを同定した。
- ⑤ 皮膚上皮由来細胞を特異的に標識するために、*K14-Cre* マウスと *Rosa26R-EYFP* マウスを掛け合わせ *K14-Cre;Rosa26R-EYFP* マウス (*K14-Cre/YFP*) を作成した。*K14-Cre/YFP* マウスの胎児の切片を作製し、免疫組織学的手法により上皮系細胞由来のメラノサイトが存在する可能性について検討した。

【結果】

- ① *Sox1-Cre/YFP* マウスから YFP 陰性 (YFP⁻) 細胞および YFP 陽性 (YFP⁺) 細胞を単離した後、*in vitro* で培養を行うことによりメラノサイト誘導能を検討した。その結果、双方の分画からメラノサイトが誘導されることがわかった。
- ② *Sox1-Cre/YFP* マウス胎児から神経管を採取し、器官培養を行った。その結果、YFP⁺ の神経管の周囲から YFP⁻ 細胞が分離・遊走することが観察され、このような細胞が YFP⁻メラノサイトの起源である可能性が考えられた。
- ③ *Sox1-Cre/YFP* マウスの組織切片を抗 DCT 抗体と抗 YFP 抗体を用いて二重染色を行ったところ、

YFP⁺およびYFP⁻の異なるメラノサイト集団が存在することが観察された。このことから、メラノサイトには、神経管を経て発生する細胞集団と神経管を経由せずに発生する細胞集団の2つの異なる起源が存在することが示唆された。

④ *Sox1-Cre/YFP* マウスにおいて、YFP⁻メラノサイトは胎生 11.5 日目の胎児の胴部に多数存在するが、個体発生に伴い減少することが認められた。一方、顔や尾部には多数の YFP⁻メラノサイト存在し、これらのメラノサイトは加齢により減少することではなく長期にわたり維持されていた。

⑤ 個体発生の過程において外胚葉は神経管と皮膚上皮系に分化する。従って、メラノサイトのうち神経管を経由せずに発生する細胞集団については皮膚上皮系譜に由来する可能性が考えられた。そこで、*K14-Cre/YFP* マウスの皮膚を解析し皮膚上皮由来のメラノサイトの存在の有無を調べた。その結果、免疫組織学的手法およびフローサイトメーターによる双方の解析によって、Kit と YFP を共発現する細胞が存在することが確認された。これらの結果から、神経管以外から発生するメラノサイトのうち、少なくとも一部は皮膚上皮系譜の細胞に由来することが示唆された。

【考察】

今回の研究から、起源の異なる2種類のメラノサイトが存在し、これらの細胞集団が異なる挙動を示すことが明らかとなった。その理由として胴部、顔、尾部のように異種の間充織からの影響を受けている可能性が考えられる。今後の研究により、これらのメラノサイトについて、より詳細にその性状の違いを明らかにする必要がある。

欧米人の場合は、メラノーマは紫外線照射の影響を受ける皮膚の露出部位に発症するケースが主体であるが、黄色人種の場合は足裏など紫外線影響を受けない部位が好発部位である。これまでは、人種間でこのような差異が生じる理由は不明であったが、由来の異なる2種類のメラノサイトがメラノーマ発症機序の違いに関与する可能性が考えられる。本研究がメラノーマ発症機序の解明の糸口となることが期待される。

【結論】

本研究により、発生学的起源の異なるメラノサイトが存在することが示唆された。また、これら異なるメラノサイトが個体発生の過程において異なる挙動を示すことを明らかにした。今後、メラノサイトの起源についてより詳細な研究を行うことの必要性を示した。

論文審査の結果の要旨

申請者 清瀬直子は、dorsal neuroepithelium のマーカーである *Sox1* のノックインマウスを用いて、melanocyte の起源を調べた。その結果、二つの異なる領域から発生する melanocyte lineage を確認することができた。さらに *Sox1-Cre negative* の neuroepithelium 由来ではない melanocyte は、胴部においては加齢とともに減少するが、顔部と尾部においては多くの melanocyte が長く維持されることを明らかにした。本研究の成果は、melanocyte の分化・発生にとって新しい知見を提供するものである。本研究は発生生物学の発展に少なからず寄与し、さらにメラノーマの発生機序の解明に有用な示唆を与えるものと認められる。

[主論文公表誌]

Naoko Yoshimura, Tsutomu Motohashi, Hitomi Aoki, Ken-ichi Tezuka, Natsuki Watanabe, Takanori Wakaoka, Takumi Era, Takahiro Kunisada: Dual origin of melanocytes defined by *Sox1* expression and their region-specific distribution in mammalian skin
Development, Growth & Differentiation 55, 270-81 (2013)