



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(要約版(Digest))
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。

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

甲第 928 号

氏 名： 清瀬直子

Full Name Naoko Kiyose

学位論文題目：Sox1の発現によって特徴付けられる2つの起源からなるメラノサイトとその領域特異的・特異的分布

Thesis Title Dual origin of melanocytes defined by Sox1 expression and their region-specific distribution in mammalian skin

学位論文要約：
Summary of Thesis

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。

②Sox1-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。

③Sox1-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】

①Sox1-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。

②Sox1-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。

③Sox1-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。

④Sox1-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、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。

Development, Growth & Differentiation 55, 270-81 (2013).