

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10936

研究課題名(和文)皮膚構成細胞の細胞運命解析による皮膚の老化・再生機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of skin aging and the reproduction with the cell-fate-analysis of the skin constitution cells

研究代表者

岡崎 睦 (OKAZAKI, Mutsumi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：50311618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：Epi-confettiシステムの構築を行い、表皮基底細胞の運命解析ができる系を確立し、表皮幹細胞クローンの可視化に成功した。このEpi-confettiシステムに、色素斑や角化異常を誘導する種々のストレス、発癌剤などを加えて観察したところ、程度の差を認めたものの、個々の表皮基底細胞に由来する細胞のクローン化が促進される傾向が認められ、毛包間上皮由来のクローンにおいては発癌に關与する所見が得られた。発癌刺激を加えたマウスの経時的観察を行い、発癌部位と異常角化部位における遺伝子発現の解析を行い、クローン化に關与する候補因子を同定した。

研究成果の概要(英文)：1) We built the Epi-confetti system and established the system that the fate analysis of the epidermal basal cell was possible and succeeded in the visualization of the epidermal stem cell clone. 2) After adding various kinds of stress and the chemical carcinogen which induced pigment spot or abnormal cornification to this Epi-confetti system, and observing it, we found the tendency that the cloning of the cell which came from an individual epidermis basal cell was promoted (although its degree varies) and its participation in carcinogenesis in the clone derived from the epithelium between the hair follicle was observed. 3) We performed the diachronic observation of the mouse which received cancer-causing stimulation and analyzed the gene expression in cancer-arising part and abnormal cornification part and identified the candidate factor which participated in cloning.

研究分野：形成外科

キーワード：Confettiシステム クローン解析 老化皮膚 遺伝毒性ストレス 表皮角化細胞 色素細胞 タモキシフェン 発癌

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎え、加齢関連疾患が顕著に増え続けており、その対策が急務である。加齢による老化皮膚において、皮膚の萎縮や老人性色素斑などの色素異常、さらに創傷治癒の遅延や不全、発癌頻度の増加などが生じ、紫外線などの外界からの遺伝毒性ストレスによっても類似の変化を認める(光老化)。加齢や光老化による老人性色素斑や色素沈着は、皮膚の典型的な老化現象の一つであるが、その仕組みについては、これまでにサイトカインとの関連が知られている程度であり、発生機序は不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、遺伝子改変マウスを用いて皮膚の幹細胞の細胞運命の解析システムを構築し、色素斑の発生過程や発癌初期において、個々の角化細胞や色素細胞がターンオーバーを繰り返しながら、均一な皮膚が不均一性状に変化していく過程について解析することを目的としている。併せて、ヒトの高齢者の露光部皮膚などの老化した皮膚においても同様の機序が存在するのかを解析し、ヒトの皮膚の老化機序、発癌機序の解明へとつなげ、良好な皮膚の維持や再生を実現することを目指すものである。

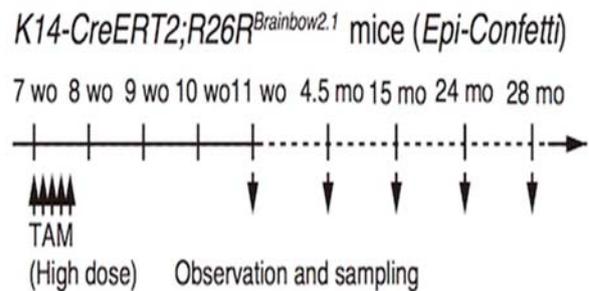
### 3. 研究の方法

クローン可視化マウス (Confetti システム) を用いて、表皮の角化細胞、および色素細胞特異的にクローン解析が可能となるシステムを構築し、ストレス刺激を与えたマウス皮膚において個々の角化細胞や色素細

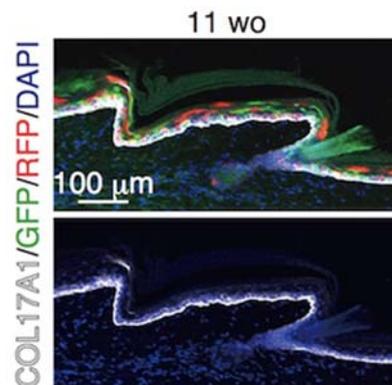
胞の動態の解析を行う。

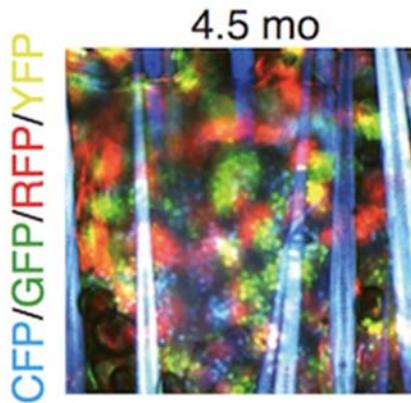
### 4. 研究成果

1) 表皮基底細胞の運命追跡システムの構築 ケラチン14プロモーター制御化にタモキシフェン (TAM) 依存性に Cre 酵素を発現する *K14creERT2* マウスと Cre 酵素依存性に4色 (GFP/YFP/RFP/CFP) の色素発現する *ROSA26<sup>brainbow2.1</sup>* マウスを用いて、表皮基底細胞を効率的に色素でラベルするマルチカラークローンラベリングシステム (*Epi-confetti* システム) の構築を行い、表皮基底細胞の運命解析ができる系を確立した。その結果、表皮幹細胞クローンの可視化に成功した(図1)。



(図1) 表皮基底細胞運命追跡システムの構築





*K14creERT2;Rosa26<sup>rainbow2.1</sup>* マウスに7週齢で、タモキシフェン (TAM) を5日間、連続投与を行い、表皮基底細胞のマルチカラーラベリングを行い、その後の運命を観察した(上図)。ラベリング後、11週齢 (11wo)、4.5ヶ月齢 (4.5mo) でのマウス尾部組織像(下図)。ラベル後、11wo では、表皮基底細胞にマルチカラーラベルが見られ、4.5mo のホールマウント像では、ラベリング細胞が徐々にクローンを形成する様子が観察された。

2) 表皮基底細胞クローンの色素斑の形成、色素沈着、角化異常、発癌への関与についての検証 上記 *Epi-confetti* システムに、色素斑や角化異常を誘導する種々のストレス、発癌剤などを加えて観察した。程度の差を認めたものの、個々の表皮基底細胞に由来する細胞のクローン化が促進される傾向が認められた。さらに表皮基底細胞のうち、毛包間上皮由来のクローンにおいては発癌に関与する所見が得られた。

3) 発癌初期における表皮基底細胞のクローン化を誘導する因子の同定

発癌刺激を加えたマウスの経時的観察を行い、表皮基底細胞クローンと発癌刺激との関わりについて分析した。さらに、発癌

部位と異常角化部位における遺伝子発現の解析を行い、クローン化に関与する候補因子を同定した。今後、これらの候補因子が実際に関与するのか、さらにそのメカニズムについて明らかにするために、試験管内での表皮培養シート、並びに *in vivo* において検証をすすめていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1件)

Matsumura H, Mohri Y, Binh NT, Morinaga H, Fukuda M, Ito M, Kurata S, Hoeijmakers J, Nishimura EK. Hair follicle aging is driven by transepidermal elimination of stem cells via COL17A1 proteolysis. *Science*. 351(6273):575, 2016

[学会発表] (計 1件)

高田亜希, 松村寛行, 岡崎 睦, 西村栄美. 老化・発癌ストレス下における毛包幹細胞のクローン運命解析 第24回日本形成外科学会基礎学術集会 岩手県民会館 (岩手県・盛岡市, 2015.10.08-09.)

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡崎 睦 (OKAZAKI MUTSUMI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・教授

研究者番号 : 50311618

(2)研究分担者

西村 栄美 (NISHIMURA EMI)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号 : 70396331

松村寛行 (HIROYUKI MATSUMURA)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号 : 70581700

(3)連携研究者

( )

研究者番号 :

(4)研究協力者

( )