

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15542

研究課題名(和文)色素細胞と表皮細胞間のメラニン輸送に関する膜分子の網羅的探索

研究課題名(英文)Comprehensive search for membrane molecules involved in melanin transport between pigmented cells and epidermal cells

研究代表者

山崎 研志 (Yamasaki, Kenshi)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：40294798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：色素細胞の自然免疫機構によるメラノソーム・メラニン合成機構輸送の影響を確認した。自然免疫機構活性化因子(TLRs刺激因子)で培養メラノサイトを刺激し、メラニン/メラノソームの放出を測定したところ、TLR3リガンドでメラノソームの放出が増加することが確認された。TLR3リガンドの刺激はメラニン産生関連遺伝子を増加させずに、メラノソーム・メラニン輸送経路を活性化させること、この輸送経路の活性化には膜関連GTPaseであるRabの産生誘導特にRAB27Aが主体的に働いており、論文報告した(Pigment Cell and Melanoma Research 2018 e-published)。

研究成果の概要(英文)：We examined the influence of melanosome / melanin synthesis and transport mechanism of pigment cells by the innate immune system. The stimulation of cultured melanocytes with the innate immune activating factor (TLRs stimulating factors) and the release of melanin / melanosome showed that melanosome release increased with TLR3 ligands. Stimulation of TLR3 ligands activated the melanosome / melanin transport pathway without increasing the melanin production-related gene, and the activation of this transport pathway is mainly responsible for the production of Rab, a membrane-associated GTPase, RAB 27A. We reported the paper in Pigment Cell and Melanoma Research (2018 e-published).

研究分野：皮膚科学

キーワード：色素細胞 自然免疫 トール様受容体 Rab GTPase

1. 研究開始当初の背景

メラニン色素細胞は皮膚表皮基底層という外界と自然免疫機構の影響を受けやすい場所に存在する。しかしながら、自然免疫機構がメラニン色素細胞の色素産生作用に如何に影響を与えているのかについての報告はなかった。

2. 研究の目的

自然免疫機構がメラニン色素細胞の色素産生作用に如何に影響を与えているのかを検討する。

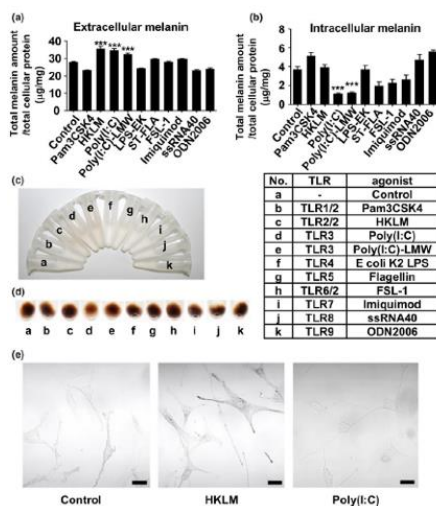
3. 研究の方法

色素細胞の自然免疫機構によるメラノソーム・メラニン合成機構輸送の影響を確認した。自然免疫機構活性化因子 (TLR s 刺激因子) で培養メラノサイトを刺激し、メラニン/メラノソームの放出を測定した。また関連する遺伝子群の同定を試みた。

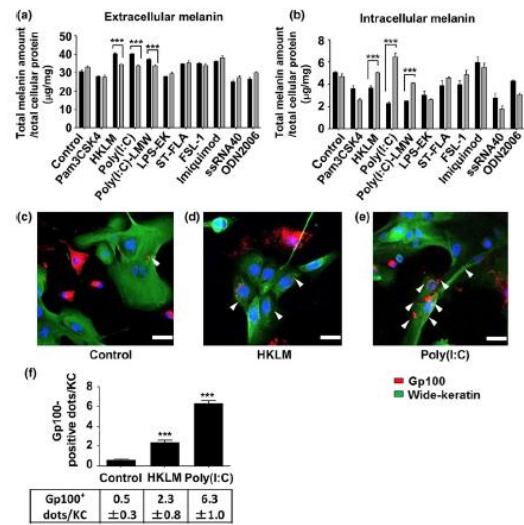
4. 研究成果

概要；自然免疫機構活性化因子 (TLR s 刺激因子) で培養メラノサイトを刺激し、メラニン/メラノソームの放出を測定したところ、TLR3 リガンドでメラノソームの放出が増加することが確認された。TLR3 リガンドの刺激はメラニン産生関連遺伝子を増加させずに、メラノソーム・メラニン輸送経路を活性化させること、この輸送経路の活性化には膜関連 GTPase である Rab の産生誘導特に RAB27A が主体的に働いていることを確認した。

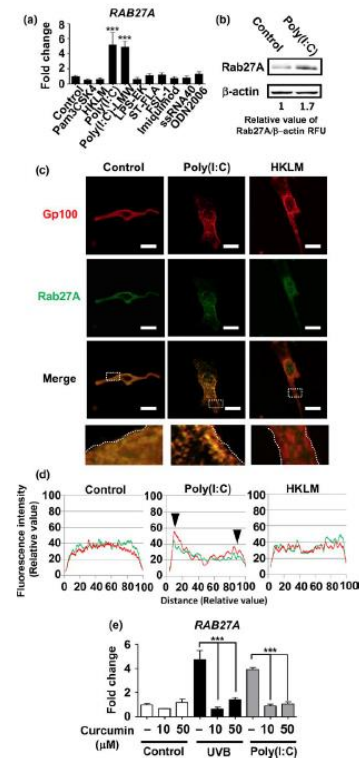
結果1；TLR2 リガンド HKLM と TLR3 リガンド Poly(I:C)はメラノサイトからのメラニン放出を誘導した。



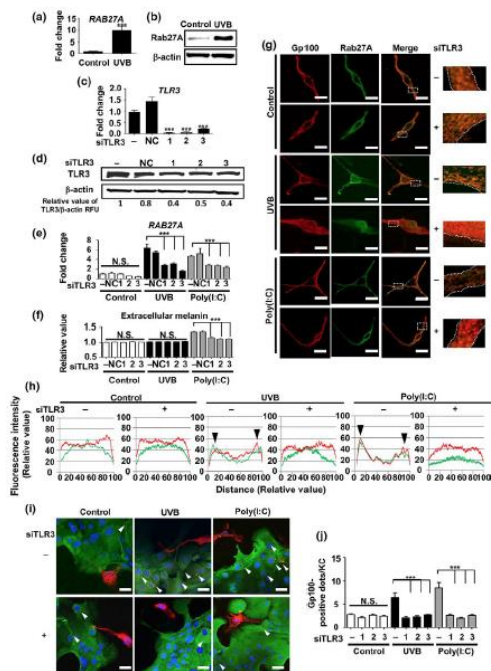
結果2；TLR2リガンドHKLMとTLR3リガンドPoly(I:C)はメラノサイトからケラチノサイトへのメラニン転移を誘導した。



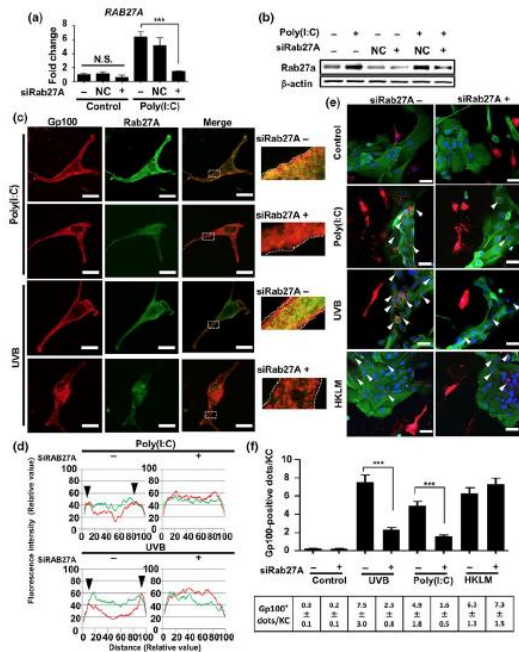
結果3；TLR3リガンドPoly(I:C)によるメラノサイト内のメラニン移動はsiRNAによるRab27Aの遺伝子発現抑制によって抑制された。



結果4; siRNAによるTLR3遺伝子発現抑制は、TLR3リガンドPoly(I:C)によるメラノサイト内のメラニン移動とRab27Aの遺伝子発現を抑制した。



結果5 ; siRNAによるRab27A遺伝子発現抑制は、TLR3リガンドPoly(I:C)によるメラノサイトからケラチノサイトへのメラニン移送を抑制した。



結論; 以上のことから、自然免疫機構TLR3によるメラニン移動とケラチノサイトへの移送には、TLR3刺激下でのRab27遺伝子の誘導とそのメラノサイト内移動(活性化)が関与していることが示された。

### 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3件)

- ① Toll-like receptors 2 and 3 enhance melanogenesis and melanosome transport in human melanocytes. Saaya Koike, Kenshi Yamasaki, Takeshi Yamauch, Mai Inoue, Ryoko Shimada-Ohmori, Kenichiro Tsuchiyama, Setsuya Aiba. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018;1-15. DOI: 10.1111/pcmr.12703. (査読有り)
- ② The Potential of Muse Cells for Regenerative Medicine of Skin: Procedures to Reconstitute Skin with Muse Cell-Derived Keratinocytes, Fibroblasts, and Melanocytes. Yamauchi Takeshi, Yamasaki Kenshi, Tsuchiyama Kenichiro, Koike Saaya, Aiba Setsuya. *J Invest Dermatol* 137, 2639-2642, 2017. DOI: 10.1016/j.jid.2017.06.021 (査読有り)
- ③ A quantitative analysis of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells in human adipose tissue and efficacy of melanocytes induction. Yamauchi Takeshi, Yamasaki Kenshi, Tsuchiyama Kenichiro, Koike Saaya, Aiba Setsuya. *J Dermatol Sci* 86, 198-205, 2017. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.03.001 (査読有り)

[学会発表] (計 4 件)

(海外開催学会のみ記載)

- ① TLR3 stimulation Regulate Phagocytosis activity of Epidermal Keratinocytes through PAR-2/ Rho signaling pathway. Saaya Koike, Kenshi Yamasaki, Takeshi Yamauch, Kenichiro Tsuchiyama, Setsuya Aiba. The International Pigment Cell Conference 2018, Denver, Colorado, USA
- ② Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells-derived melanocytes have functional roles in 3D reconstituted Muse-skin. Takeshi Yamauchi, Kenshi Yamasaki, Kenichiro Tsuchiyama, Saaya Koike, Setsuya Aiba. The International Pigment Cell Conference 2018, Denver, Colorado, USA
- ③ UVB and Poly(I:C) induce PAR-2 and enhance melanosome uptake by normal human epidermal keratinocytes through TLR3 signaling pathway. Saaya Koike, Kenshi Yamasaki, Takeshi Yamauch, Kenichiro Tsuchiyama, Setsuya Aiba. The Society of Investigative Dermatology Annual Meeting 2017, Portland, Oregon, USA
- ④ Adipose Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cell maintain pluripotency regardless of donors' age. Takeshi Yamauchi, Kenshi Yamasaki, Kenichiro Tsuchiyama, Saaya Koike, Setsuya Aiba. The Society of Investigative Dermatology Annual Meeting 2017, Portland, Oregon, USA

[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  
<http://www.derma.med.tohoku.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 研志 (YAMASAKI, Kenshi)  
東北大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：40294798

(2) 研究分担者

土山 健一郎 (TSUCHIYAMA, Kenichiro)  
東北大学・大学病院・助教  
研究者番号：50711743

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )