

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790377

研究課題名（和文） 色素幹細胞の異所性分化機構を司る分子経路とその病理学的意義の解明

研究課題名（英文） The molecular mechanism of ectopic differentiation from the study of DNA-damage response of Melanocyte Stem Cell.

研究代表者

青戸 隆博 (AOTO TAKAHIRO)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：90457599

研究成果の概要（和文）：

これまでに申請者らは加齢時や放射線照射のような外来性のゲノム損傷刺激により、色素幹細胞ニッチにおいて本来ならば毛母にのみ存在するはずの分化した色素細胞が異所性に出現することによって色素幹細胞の自己複製が阻害されること、およびこれらが白毛化の原因となりうることを報告してきたが、本研究では新たにゲノム損傷刺激が一律に幹細胞の自己複製を阻害するのではなく、逆に発がん性が知られる紫外線やDMBAなどのゲノム損傷は幹細胞の自己複製の亢進をもたらすことを見出した。さらにこれらのタイプの異なるゲノム損傷応答の反応性の違いにはニッチからの増殖因子/サイトカインなどの分泌の有無とその下流シグナル経路が重要な役割を果たすことを、遺伝子組替えマウスを用いた解析から明らかにした。これらは、ゲノム損傷刺激が単純に幹細胞に対して細胞自律的に作用するだけでなく、幹細胞ニッチに対しての間接的な作用をも介した細胞非自律的な作用との複合的な機構によって影響すること、さらにこれらが癌化のプロセスで重要な意味を持っていることがわかった。これらの知見は加齢に伴う組織の老化による機能低下や異常増殖による癌化のメカニズムを知る上で重要な意義を持つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：

I have previously shown that genotoxic stress, including X-ray or free-radical species, abrogate self-renewal of melanocyte stem cell and leads to the depletion of the functional melanocyte, and this is one of the mechanism for the hair graying during the aging process. Although malignant melanoma is known to be caused by the mutation of various oncogene or tumor suppressors in melanocyte lineage, the precise origin of proliferative melanoma cells in the tumors has been unknown.

In this study, melanomagenic-genotoxic stress, including UV or DMBA, induce the increased number of melanocyte stem cell, and can antagonize hair-graying inductive genotoxic stress. I found that the difference between hair graying- and melanomagenic-inductive stress is caused by the response of the niche, rather than the melanocyte stem cells *per se*, after the differential genotoxic stress. I found that niche derived secreting factor after the melanomagenic stress can support the self-renewal of melanocyte stem cells and bypass the hair graying *in vitro* and *in vivo*.

Collectively, these data indicate the choice between tissue aging and tumorigenesis is determined by the complex interplay of stress response between the stem cell and niche.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1600000	480000	2080000
2011年度	1400000	420000	1820000
年度			
年度			
年度			
総計	3000000	900000	3900000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：実験病理学

キーワード：幹細胞、皮膚、細胞分化、DNA 損傷応答、白髪

1. 研究開始当初の背景

白髪に代表される老化形質は加齢に伴う DNA 損傷などの変異の蓄積を原因の一つとするものと考えられてきている。一方で、悪性黒色腫(メラノーマ)に代表されるような腫瘍もまた加齢に伴う DNA 損傷などの変異の蓄積が原因と考えられる。これら DNA 損傷を原因とする組織の機能的/器質的な異常をもたらす上で、組織幹細胞とよばれる組織の恒常性において中心的な役割を果たす一連の細胞の役割が近年注目されている。

色素細胞系譜は、マウスにおいては皮膚の毛包に局在しメラニン合成を司り、白髪や黒色腫の原因と考えられる細胞系譜であるが、この細胞系譜においても未分化な色素幹細胞とよばれる組織幹細胞が存在することで細胞の安定的な供給が行われていることが近年わかってきた。色素幹細胞は、解剖学的に分化細胞の局在する毛母とは異なるバルジとよばれる部位をそのニッチとし、さらに毛周期の存在により幹細胞が静止期から活性化し子孫細胞を産出する過程を複雑な組織構造の中で経時的に追跡することが可能であり、さらに色素細胞系譜は最大の特徴として可視化できるメラニン合成の有無および組織構造内での配置により、幹細胞と分化した細胞を区別して可視化することが可能であることから、これら色素幹細胞に着目して幹細胞システムの異常と組織の機能的/器質的な変化の発生機序を解明することを発案した

このような特徴を活用することで、申請者はこれまでに加齢時や放射線照射のような外来性のゲノム損傷刺激により、色素幹細胞ニッチにおいて本来ならば毛母にのみ存在するはずの分化した色素細胞が異所性に

出現することによって色素幹細胞の自己複製が阻害されること、およびこれらが白毛化の原因となりうることを報告してきた。しかし同様に色素幹細胞が重要な役割を果たすと考えられる悪性黒色腫(メラノーマ)においてのゲノム損傷刺激やその幹細胞の応答反応はほとんどよくわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、マウス毛包バルジ領域に局在する色素幹細胞とその維持不全による白髪または黒色腫の発症をモデル系とすることにより、申請者らが過去に見出したゲノム損傷応答反応としての色素幹細胞の異所性分化誘導の分子メカニズムおよび老化/腫瘍化における生理学的意義、それらの組織老化に与える影響を解析することで、『色素幹細胞の異所性分化機構を司る分子経路とその病理学的意義の解明』をとり行うことを目的としている。

3. 研究の方法

色素細胞系譜の制御やゲノム損傷応答に関わるさまざまな遺伝子を欠損、あるいは過剰発現するマウスにおいて、種々のゲノム損傷を与える刺激を与え、それらの体毛毛包の毛周期での変化を組織学的染色に供することで色素幹細胞のゲノム損傷時の挙動変化を追跡する。また、初代培養細胞を用いて *in vitro* においてもゲノム損傷時の変化と上記の因子の与える影響についての解析を行う。

また色素幹細胞のみならずその周辺環境であるニッチのゲノム損傷応答時の変化も重要な意味を持つものと考えられることか

らこれらニッチ由来の因子の解析及びこれらの分子の発現の挙動の変化、さらに遺伝子組み替えマウスによる色素細胞系譜への影響評価を執り行う。

4. 研究成果

ゲノム損傷による幹細胞ニッチ由来の環境因子の変化に関与するニッチ由来の分泌因子の解析を進め、種々のゲノム損傷によるマウス体毛への影響を詳細に解析した結果、これまで明らかにしてきた放射線照射による白毛化誘導と色素幹細胞の自己複製の阻害とは対照的に、黒色腫を誘発するような紫外線などに由来するゲノム損傷刺激においては色素幹細胞の過剰な自己複製を誘発し、その結果、幹細胞数の増加を認めた。さらにこのときは異所性分化は回避されており、腫瘍化のプロセスに解いて細胞の異所性分化を回避することが重要な意義を持つことが示唆された。そしてこれらの現象に関連する因子のスクリーニングを行った結果、有力な候補分子を得ることができ、この分子および下流のシグナル伝達経路に関与する遺伝子組み換えマウスを用いてゲノム損傷応答における色素幹細胞の性質変化について解析したところ、色素幹細胞の異所性分化を抑制し、さらには白髪発症を顕著に抑制する能力を有することがわかった。さらにこの分子は色素幹細胞のニッチ領域に強く発現しており、紫外線などのゲノム損傷により特異的に誘導されることから、ゲノム損傷刺激は幹細胞に対する自律的作用だけでなく、幹細胞ニッチに対する細胞非自律的な作用を介して幹細胞プールの運命決定に関与することでことがわかった。そして異所性分化は幹細胞の有する内在性の腫瘍抑制メカニズムであることが示唆された。

これらの知見は加齢に伴う組織の老化による機能低下や異常増殖による癌化のメカニズムを知る上で重要な意義を持つと考えられる。

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 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

- ① Natsuko Okamoto, Takahiro Aoto, et al.,
“Identification of eccrine gland melanocyte stem cells in mouse acral skin as a potential source of acral melanoma”

平成 23 年 12 月 9 日 日本研究皮膚科学会 第 36 回年次学術大会・総会 (京都)

- ② Takahiro Aoto, Natsuko Okamoto, et al.,
“Identification of eccrine gland melanocyte stem cells in mouse acral skin as a potential source of acral melanoma”
平成 23 年 6 月 17 日 第 9 回 国際幹細胞学会 ISSCR (トロント)

- ③ Natsuko Okamoto, Takahiro Aoto, et al.,
“Identification of eccrine gland melanocyte stem cells in mouse acral skin as a potential source of acral melanoma”
平成 23 年 5 月 13 日 第 9 回 幹細胞シンポジウム (東京)

[図書] (計 3 件)

- ① 青戸 隆博・西村 栄美
『幹細胞から考える組織の老化メカニズム なぜ歳をとると白髪になるのか?』
再生医療 9(2):pp239-247, 2010:

- ② 青戸 隆博・西村 栄美
『ステムセルエイジングと白髪』 医学のあゆみ 234(8) : pp799-800, 2010

- ③ 青戸 隆博・西村 栄美
『白髪が生じるメカニズム』
ファルマシア 46(12) : pp1115-1120, 2010

[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◇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.tmd.ac.jp/mri/scm/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青戸 隆博 (AOTO TAKAHIRO)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：90457599

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：