

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860963

研究課題名(和文)胎児メラノサイトの部位特異性に関する研究

研究課題名(英文)Site-specificity of the human fetal melanocyte

研究代表者

中村 元樹(Nakamura, Motoki)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70645051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：4箇所の胎児皮膚(頭部、背部、腹部、足底、胎生13週～22週、計36体)をHMB45、MITFなど各種抗体で免疫染色し、胎生期におけるメラノサイトの遊走過程を解明した。有毛部皮膚では、メラノサイトは胎生12から15週に、これから毛芽が形成される表皮基底層に存在し、足底皮膚では胎生早期、汗管形成以前にメラノサイトが汗管発生部位に到達し、汗管の伸長と共に深く入っていくことを明らかにした。エクリン汗腺にメラノサイト幹細胞が存在するとする近年の報告を裏付けるものであり、ヒトでの研究は初めてである。

研究成果の概要(英文)：We obtained 4-mm punch biopsies from the scalp, back, abdomen, and right sole of 36 aborted fetuses (gestational age 12-21 weeks). We compared the migration process between hairy areas and volar areas by immunohistochemical staining. Immunohistochemical examination revealed that gp100 (HMB-45) sensitively detects human melanocytes in embryogenesis. Melanocytes were present at the epidermal base, where hair placodes/buds form at 12-15 weeks gestation. Fetal melanocytes in hair follicles are supplied from the epidermis. In volar skin, melanocytes originally localize only in the acrosyringium, where they migrate deeper into with gland development at 16-18 weeks gestation. Palmoplantar melanocyte migration and maturation processes differ considerably from those of the other hairy skin sites. Eccrine sweat glands seem to have a central role in the palmoplantar melanocyte migration process, similar to the role of hair follicles in hairy sites.

研究分野：皮膚科学

キーワード：メラノサイト メラノプラスト 足底 幹細胞 胎児

1. 研究開始当初の背景

メラノサイトは神経堤から分化し、胎生期に真皮を通過して主に表皮基底層に遊走する (Mishima Y, *J Invest Dermatol*, 1966; Becker SW and Zimmermann AA, *Mol Biol Cell*, 1955; Holbrook KA, *Anat Embryol*, 1989)。表皮基底層以外に到達したメラノサイトはその部位により異なる性質を持つことが知られる。例えば、毛包のメラノサイトは表皮のメラノサイトと異なり (Tobin DJ and Bystry JC, *Piment Cell Res*, 1996)、内耳や眼の脈絡膜のメラノサイトもまた表皮のメラノサイトとは異なる性質を持つ (Aoki et al, 2009)。同じ表皮でも、メラノサイトが悪性化した腫瘍である悪性黒色腫では、足底に多いタイプである末端黒子型悪性黒色腫と他のタイプの悪性黒色腫では原因となる遺伝子変異が異なる (Curtin JA, *J Clin Oncol*, 2006) ことなどが報告されている。しかしヒトでのメラノサイトの遊走は不明な点が多く、表皮のメラノサイトの部位による特異性の有無、そしてその部位特異性がどのようにもたらされているのかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

メラノサイトの部位特異性、特に掌蹠メラノサイトの部位特異性はその成熟過程の特異性に由来すると考えられる。有毛部のメラノサイトは毛包のバルジ領域に存在するメラノサイト幹細胞から供給されるが (Nishimura EK *Science*, 2005) 掌蹠にはその幹細胞が存在すべき毛包が無い。皮丘、皮溝で構成される皮膚紋理が平行に走行し、その皮丘の中央にはエクリン汗腺が開孔している。そしてメラノサイトは存在するにもかかわらずメラニン色素をほとんど産生しない。厚い表皮・角質を作る掌蹠ケラチノサイトと同様に、部位特異性を持つ掌蹠のメラノサイトについて、その成熟過程である胎生期の遊走形式を明らかにすべく実験を行った。

3. 研究の方法

名古屋市立大学ヒト遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認のもと、墮胎された胎児から4箇所(頭部、背部、腹部、足底、胎生13週~22週、計36体)を採取した。採取された胎児皮膚はHMB45, MITFなど各種抗体で免疫染色を行い、胎生期におけるメラノサイトの遊走過程を詳細に観察した。

4. 研究成果

(1) 31体の胎児から採取した皮膚は、その成熟の程度から3つの期間に分けられた。胎生12-15週: 毛包、汗管が作られる前の期間、胎生16-18週: 毛包、汗管が作られている期間、胎生19-21週: 毛包、汗管が完成し

た後の期間である (Figure 1)

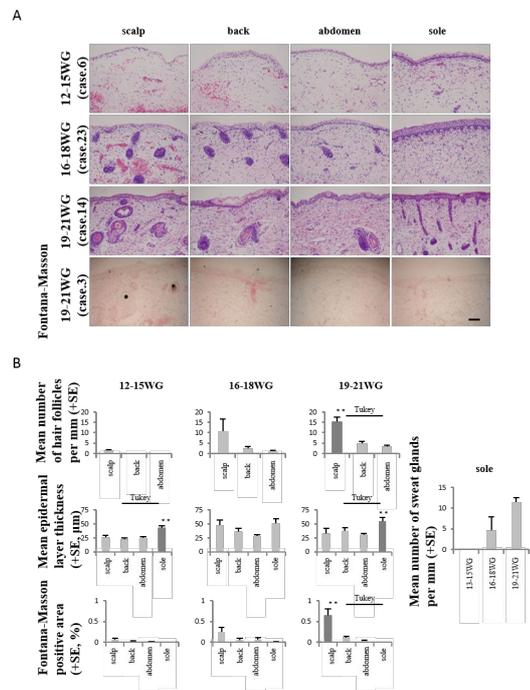


Figure 1

胎生12から15週には、足底表皮の厚さ以外に4か所の皮膚に明らかな差異は認めないが、有毛部皮膚では胎生14週頃に毛芽が形成され始める。一方掌蹠皮膚では、等間隔の表皮突起の延長が胎生16週頃よりみられ、胎生19から21週にはエクリン汗管としてまっすぐと真皮深層に向かって延長する。毛包及び汗管の密度、表皮の厚さを Figure 1B に示す。メラニン色素は胎生19から21週の毛包内にのみ認められる。

(2) 得られた凍結切片を用いて gp-100、MART-1、DCT などのメラノサイトマーカー

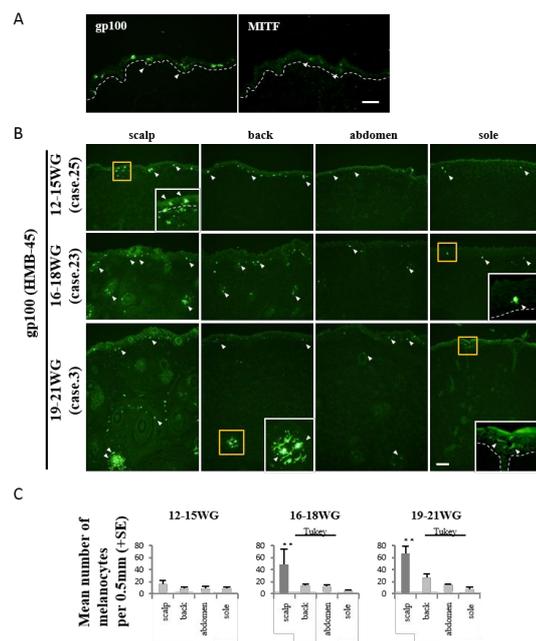


Figure 2

による免疫染色をおこなった。gp100 と MITF による連続切片の染色結果を Figure2A に示す。gp100(HMB-45)は胎生期のメラノサイトのよいマーカーとして知られるが、MITF(D5)、tyrosinase(α PEP-7h)、DCT(α PEP-8h)、MART-1(Melan-A)と比べ、胎生期の同一時期においてより多くのメラノサイトを観察できた。有毛部皮膚では、メラノサイトは胎生12 から 15 週に、これから毛芽が形成されるであろう表皮基底層に集合して存在し、毛の発生と同時に毛包でも確認できる。足底皮膚は汗管形成以前から基底層に等間隔に存在し、汗管形成後は汗管開口部に多く局在していた (Figure2B、3B)。また、メラノサイトの密度は毛包および汗腺の密度に比例し頭部で優位に多くなっていた (Figure2C)。

(3) 足底皮膚のメラノサイトの遊走を詳しくみると、胎生早期、汗管形成以前にメラノサイトが汗管発生部位に到達し、汗管の伸長と共に深く入っていく様子が観察された (figure3A)。これはエクリン汗腺にメラノサイト幹細胞が存在するとする近年の報告(9)を裏付けるものであり、ヒトでの研究は初めてである。比較のため成人の足底皮膚標本を Figure3C に示す。

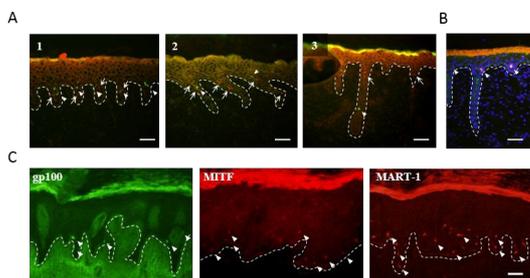


Figure 3

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4件)

Action spectrum of melanoblast maturation and involvement of the aryl hydrocarbon receptor. Motoki Nakamura, Emi Nishida, Akimichi Morita, Exp. Dermatol. in Printing 査読あり

Site-specific migration of human fetal melanocytes in volar skin. Motoki Nakamura, Mizuho Fukunaga-Kalabis, Yuji Yamaguchi, Takuya Furuhashi, Emi Nishida, Hiroshi Kato, Toshihiko Mizuno, Mayumi Sugiura, Akimichi Morita, J Dermatol Sci. 2015 May;78(2):143-8. 査読あり

〔学会発表〕(計4件)

Melanoblast maturation is mediated by the aryl hydrocarbon receptor pathway. Motoki Nakamura, Emi Nishida, Akimichi Morita, 日本研究皮膚科学会 第39回年次学術大会・総会、2014年12月12-14日、ホテル阪急エキスポパーク(大阪府、吹田市)

Action spectrum of melanoblast activation for vitiligo-dedicated UV therapy, Motoki Nakamura, Kan Torii, Takuya Furuhashi, Emi Nishida, Akimichi Morita, The 44th ESDR meeting, 10-13 September 2014, Copenhagen (Denmark)

Action spectrum of melanoblast activation for vitiligo-dedicated UV therapy, Motoki Nakamura, Kan Torii, Takuya Furuhashi, Emi Nishida, Akimichi Morita, 第11回日独皮膚科会議、2014年6月11-14日、ハイデルベルグ(ドイツ)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 無し

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中村 元樹 (NAKAMURA, Motoki)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・助教

研究者番号：70645051

(4)研究協力者

森田 明理 (MORITA, Akimichi)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・教授

研究者番号：30264732

杉浦 真弓 (SUGIURA, Mayumi)

名古屋市立大学大学院医学研究科・産科婦人科・教授

研究者番号：30264740

山口 裕史 (YAMAGUCHI, Yuji)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・准教授

研究者番号：00335340

西田 絵美 (NISHIDA, Emi)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・助教

研究者番号：80597534

加藤 裕史 (KATO, Hiroshi)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・助教

研究者番号：30570709

古橋 卓也 (FURUHASHI, Takuya)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環

境皮膚科学

研究者番号：40623476

鳥居 寛 (TORII, Kan)

名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環

境皮膚科学

Mizuho Fukunaga-Kalabis

Molecular and Cellular Oncogenesis Program,

The Wistar Institute

水野 俊彦 (MIZUNO, Toshihiko)

産科婦人科水野クリニック・院長