

機関番号：32202

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21791091

研究課題名 (和文) 加齢白髪モデルマウスにおける PTEN のメラノサイト幹細胞維持機構の検討

研究課題名 (英文) The role of PTEN in melanocyte stem cell maintainance in aged hair graying model mice

研究代表者 成田多恵 (NARITA TAE)  
自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：10301061

研究成果の概要 (和文)：メラノサイト特異的 PTEN ノックアウトマウスと bcl-2 ノックアウトマウス、mitf 変異マウスを交配することによって、加齢に伴う白髪化がどれだけ PTEN によって抑制されるかどうか、つまり PTEN の詳細なメラノサイト幹細胞の制御機能を明らかにする。

(1) ダブルノックアウト・変異マウスの作成

DctCrePten<sup>flox/flox</sup>・bcl-2<sup>-/-</sup>マウスは生後1ヶ月程度で衰弱死するものがほとんどで、なかなか加齢に伴う白髪化が観察しにくい状況である。DctCrePten<sup>flox/flox</sup>マウスには多様な神経症状を伴い早期死亡することをわれわれは既に報告しており、bcl-2<sup>-/-</sup>マウスの形質と合併するとやはり早期死亡につながるのではないかと考えている。DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・mitf<sup>vit/vit</sup>マウスは早期死亡は少ないため、現在経過観察中である。

(2) ダブルノックアウトマウスの形質の観察

DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・mitf<sup>vit/vit</sup>マウスの毛色を経時的、肉眼的に観察している。本研究の目的は加齢に伴う白髪化における PTEN 関連分子の変化をみるものであり、現在長期観察の途中である。

研究成果の概要 (英文) : To clarify the role of PTEN in melanocyte stem cell maintainance in hair graying, we studied PTEN role in bcl-2 null, or mitf mutant mice, which are known as hair graying model mice. We generated PTEN and bcl-2, or PTEN and mitf double mutant mice, and now studying their hair color change in natural aging.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：色素細胞学、幹細胞

1. 研究開始当初の背景  
近年、加齢に伴い白髪化を呈するマウスとし

て、bcl-2 ノックアウトマウス、mitf<sup>vit/vit</sup> 変異マウスが知られている。われわれがこれまで

に報告した白髪抵抗性を有するメラノサイト特異的 PTEN ノックアウトマウスの培養メラノサイトでは、野生型に比べてこれらの bcl-2 分子は過剰発現し、mitf 分子は特に発現の違いはなかった。

## 2. 研究の目的

今回、メラノサイト特異的 PTEN ノックアウトマウスと bcl-2 ノックアウトマウス、mitf 変異マウスを交配することによって、加齢に伴う白髪化がどれだけ PTEN によって抑制されるかどうか、つまり PTEN の詳細なメラノサイト幹細胞の制御機能を明らかにすることを目的とする

正常メラノサイト幹細胞が加齢に伴う幹細胞制御分子群の変化に伴う幹細胞維持メカニズムを明らかにすることは、メラノサイト幹細胞の枯渇としての白髪化、さらにはメラノサイト癌細胞の癌幹細胞化としての悪性黒色腫の発生の分岐点となる分子制御メカニズムを明らかにするものと期待される。

## 3. 研究の方法

(1) DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・Bcl-2 ダブルノックアウトの作成、DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・Mitf<sup>vit/vit</sup> ダブル変異マウスの作成

既に、理化学研究所より bcl-2 ノックアウトマウス、岐阜大学国定隆弘教授より mitf<sup>vit/vit</sup> マウスの譲渡をうけ、申請者の前任の秋田大学にて DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup> マウスとの交配をすすめている。現在ジェノタイプング（ゲノム PCR 法とダイレクトシーケンシング法）と長期経過観察を行っている。異動に伴い一部胚細胞として凍結保存している。

(2) ダブルノックアウト・変異マウスの形質の観察、病理組織学的検討  
肉眼的に PTEN ノックアウトにより、これらの白髪モデルマウスの白髪化の形質が抑制されるかどうか調べる。マウスの加齢のステージ別に毛包のホールマウント染色を行い、メラノサイト染色を行い (Dct 染色)、組織学的にバルジ領域のメラノサイトの動態が加齢と共にどう変化するかを調べる。他に、野生型マウスにおける加齢によるバルジ領域メラノサイト幹細胞の PTEN・bcl-2・mitf の発現を加齢毎に調べ、各ダブル変異マウスの発現量と比較し、加齢にともなうこれらの分子の発現量の相互作用を明らかにする。

## 4. 研究成果

(1) ダブルノックアウト・変異マウスの作成

理化学研究所より bcl-2 ノックアウトマウス、岐阜大学国定隆弘教授より mitf<sup>vit/vit</sup> マウスの譲渡をうけ、申請者の前任で DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup> マウスとの交配をすすめ

た。DctCrePten<sup>flox/flox</sup>・bcl-2<sup>-/-</sup>マウスは生後 1 ヶ月程度で衰弱死するものがほとんどで、なかなか加齢に伴う白髪化が観察しにくい状況である。DctCrePten<sup>flox/flox</sup> マウスには多様な神経症状を伴い早期死亡することをわれわれは既に報告しており、bcl-2<sup>-/-</sup>マウスの形質と合併するとやはり早期死亡につながるのではないかと考えている。

DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・mitf<sup>vit/vit</sup> マウスは早期死亡は少ないため、現在経過観察中である。

(2) ダブルノックアウトマウスの形質の観察

DctCre-Pten<sup>flox/flox</sup>・mitf<sup>vit/vit</sup> マウスの毛色を経時的、肉眼的に観察している。本研究の目的は加齢に伴う白髪化における PTEN 関連分子の変化をみるものであり、現在長期観察の途中である。

## 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 4 件)

Tsuda M, Inoue-Narita T, Suzuki A, Itami S, Blumenberg M, Manabe M. Induction of gene encoding FABP4 in Pten-null keratinocytes. FEBS Lett. 583(8), 2009. 1319-1322.

Kakurai M, Demitsu T, Umemoto N, Kobayashi Y, Inoue-Narita T, Fujita N, Ohtsuki M, Furukawa Y. Vasoactive intestinal peptide and inflammatory cytokines enhance vascular endothelial growth factor production from epidermal keratinocytes Br J Dermatol. 161(6), 2009, 1232-1238.

Watabe D, Kanno H, Inoue-Narita T, Onodera H, Izumida W, Kowata S, Sawai T, Akasaka T. A case of primary cutaneous natural killer/T-cell lymphoma, nasal type, with indolent clinical course: monoclonal expansion of Epstein-Barr virus genome correlating with the terminal aggressive behaviour. Br J Dermatol. 205-7. 2009. 205-207.

Yamakawa T, Inoue-Narita T, Tsuda M, Hatkeyama S, Fujita S, Sasaki T, Suzuki A, Manabe M. SUPPRESSION OF SPONTANEOUS CARCINOGENESIS IN KERATINOCYTE-SPECIFIC PTEN-DEFICIENT MICE WITH SELECTIVE INHIBITION OF PI3K ISOFORMS -Suppression of Spontaneous Carcinogenesis in Keratinocyte-Specific Pten-Deficient Mice with Selective Inhibition of PI3K Isoforms. 秋田医学 36(1) 2009 19-23

〔学会発表〕（計 1 件）

Tsuda M, Inoue-Narita T, Suzuki A, Itami S, Blumenberg M, Manabe M Induction of gene encoding FABP4 in Pten-Null keratinocyte 日本研究皮膚科学会 第 34 回年次学術大会 2009 年 12 月 4 日～6 日 福岡

〔図書〕（計 3 件）

成田多恵 皮膚症状から内科的疾患をみつけるためのエッセンス よく見て、じっくり考えよう レジデントノート, 羊土社, 2010, 150

成田多恵, やさしい皮膚病診療ガイド 皮膚科医の手の内を伝授!】小児に多い皮膚疾患 伝染性軟属腫, 南山堂, 2010

成田多恵, 出光俊郎

【皮膚で見つける全身疾患】びまん性色素沈着 (POEMS 症候群), メディカルレビュー社, 2010

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

成田 多恵 (NARITA TAE)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：10301061