

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15114

研究課題名（和文）色素幹細胞の運命決定機構から解明する老化と癌の関係性

研究課題名（英文）The relationship between aging and cancer revealed by the mechanism of McSC fate determination

研究代表者

毛利 泰彰（Mohri, Yasuaki）

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：00622995

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：組織幹細胞は、組織の恒常性維持、加齢、癌化において重要な役割を担っている。しかし、幹細胞システムがこれらの異なる組織の運命をどのように支配しているかまだ詳細は不明である。白髪や脱毛は典型的な老化形質として知られており、加齢にともない、色素幹細胞の枯渇による白髪を示す一方で、色素幹細胞が異常増殖することでメラノーマを発症する。本研究では皮膚をモデルにし、遺伝子改変マウスを用いることで、加齢やゲノムストレス下において、色素幹細胞のニッチが白髪やメラノーマといった運命決定に大きな影響を与えることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢による組織変化は臓器ごとにそれぞれの特徴を有するが、大きくは萎縮と癌化の2つに分類される。しかし、加齢にともない組織や臓器の加齢変化が萎縮に向かうのか、あるいは発癌に向かうのか、その実体はほとんど明らかになっていない。本研究は、ゲノムストレスによる色素幹細胞の運命決定の仕組みを明らかにしたものである。今後、組織ごとの共通性や独自性が明らかとなり、組織老化の仕組みの理解が進むことが想定されるため学術的な意義は高い。また、この仕組みは治療法の開発へとつながることも期待され、社会的意義も高い。

研究成果の概要（英文）：Tissue stem cells play important roles in tissue homeostasis, aging and cancer, yet it is not clear how stem cells govern the different tissue fates. Hair graying and hair loss are known as the typical aging phenotypes. Hair graying is caused by the exhaustion of McSCs, while melanoma develops due to abnormal proliferation of McSCs. In this study, using skin as a model, McSC niche has been clarified to have a significant impact on the tissue fate of hair graying and melanoma under aging and genomic stress.

研究分野：皮膚科学

キーワード：色素幹細胞 毛包幹細胞 ニッチ 白髪 メラノーマ 老化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

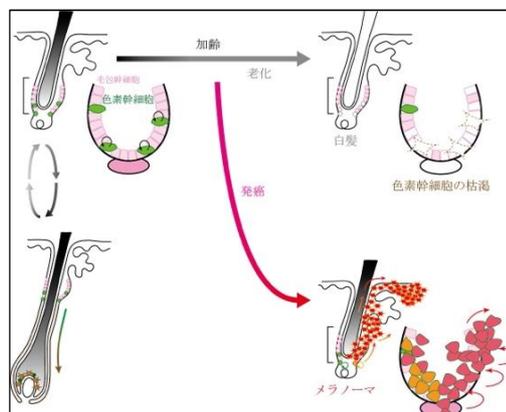
1. 研究開始当初の背景

近年高齢社会を迎え平均寿命が高くなるにつれ、加齢関連疾患が増え続けている。老化に関する研究は、線虫や酵母などのモデル生物を用いた寿命研究に端を発し活発に行われてきた。しかし、実際に個体が老化する過程において、組織のどの細胞集団にいかなる変化が起こり老化形質の発現を引き起こすのか十分に理解されていない。これまでの幹細胞研究の進展により、組織幹細胞の加齢変化は、組織老化の中でも本質的なものとして認識されつつあり、組織幹細胞の加齢変化を理解することが個体や臓器の老化を理解するうえで重要であると考えられている。

白髪や脱毛は典型的な老化形質の代表として知られる。研究代表者の所属するグループでは、皮膚を用いた一連の研究により、加齢や一定レベル以上のゲノムストレスにより、色素幹細胞や毛包幹細胞の維持・制御が不完全になり、色素幹細胞や毛包幹細胞が枯渇することで白髪や脱毛という老化形質の発現につながることを明らかにしている (Nishimura et al., Science, 2005) (Inomata et al., Cell, 2009) (Matsumura, Mohri et al., Science, 2016)。一方で、色素細胞系譜の悪性腫瘍であるメラノーマもまた加齢とともにその罹患率が上昇するため、癌の発症機構の解明は、加齢という視点からも重要な課題である。

2. 研究の目的

ヒトは加齢とともに色素幹細胞の枯渇による白髪を示す一方で、色素幹細胞が異常増殖することでメラノーマを発症する(右図)。しかし、このような大きく異なった組織や細胞の運命が、どういった仕組みによって制御されているのかほとんどわかっていない。そこで、色素幹細胞の自己複製能が破綻し、最終的に白毛化する「幹細胞枯渇性のゲノムストレス」と、色素幹細胞の異常増殖によりメラノーマ発症に繋がる「発癌性のゲノムストレス」の違いや意義を明らかにし、加齢の過程で暴露されるゲノムストレスの種類により、最終的な老化形質に違いが生じる仕組みを明らかにすることを本研究の目的とした。



3. 研究の方法

A) 色素幹細胞に影響を与えるニッチ因子の同定と機能解析

・若齢マウスと加齢マウスの皮膚から表皮細胞を回収し、シングルセル RNA-seq で表皮の加齢変化を網羅的に解析した。

・色素幹細胞のニッチ細胞を EGFP で標識できるトランスジェニックマウスと FACS を組み合わせることで、様々なゲノムストレスを負荷したマウス、若齢マウスと加齢マウスから色素幹細胞のニッチ細胞を回収した。回収した細胞の遺伝子発現変化をマイクロアレイや RNA-seq を用い網羅的に解析した。

・上記の網羅的解析から色素幹細胞に影響を与えるニッチ因子の候補をスクリーニングした。次に、その候補因子の遺伝子改変マウスを作成し、ニッチ因子が色素幹細胞の維持や分化へ及ぼす影響を解析した。

・色素細胞の初代培養細胞である NHEM を用い、ニッチ因子の機能解析を行なった。培養上清にニッチ因子を添加し、NHEM にゲノムストレスを負荷した。コメットアッセイ、DCFDA や MitoSOX を用いて DSB や酸化ストレスの度合いを in vitro で解析した。

B) メラノーマモデルマウスの樹立とニッチ因子の発癌に及ぼす影響の解析

・ Dct-CreER マウスとメラノーマで高頻度に変異や欠損などが見られる Braf、Pten の遺伝子改変マウスを掛け合わせ DctCreER/Braf/Pten マウスを作製した。得られた DctCreER/Braf/Pten マウスにタモキシフェンを投与し、色素幹細胞で Braf の変異と Pten の欠損を誘導した。

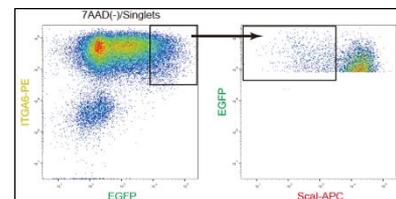
・ 上記の DctCreER/Braf/Pten マウスへのタモキシフェン投与に加え、候補となったニッチ因子の阻害剤を同時に投与した。また、ニッチ因子の過剰発現マウスや遺伝子欠損マウスに UVB や DMBA などの発癌ストレスを負荷し、発癌への関与を検討した。

4. 研究成果

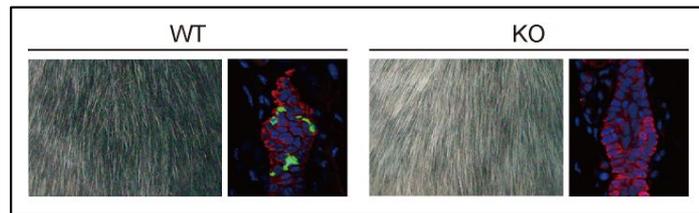
A) 色素幹細胞に影響を与えるニッチ因子の同定と機能解析

・ 加齢マウスの表皮をシングル RNA-seq で解析することで、色素細胞とそのニッチ細胞、表皮細胞の加齢による変化の詳細が明らかとなった。

・ それぞれの条件で飼育したマウスからセルソーターでニッチ細胞を回収した(右図)。次にニッチ細胞での遺伝子発現変化を網羅的に解析し、ゲノムストレスや加齢により有意に発現が変化した遺伝子をニッチ因子の候補とした。



・ 候補として挙げられたニッチ因子の遺伝子改変マウスを作製した。得られた遺伝子改変マウスに色素幹細胞枯渇性のストレスを負荷したところ、遺伝子欠損マウスにおいて色素幹細胞の枯渇と白髪が促進的に見られた(右図)。一方で、過剰発現マウスにおいては色素幹細胞の枯渇と白髪が抑制されることが明らかとなった。



・ NHEM の培養上清にニッチ因子を添加しゲノムストレスを負荷した。ニッチ因子存在下において、DSB や酸化ストレスなどのゲノムストレスが早期に収束することが明らかとなった。

B) メラノーマモデルマウスの樹立とニッチ因子の発癌に及ぼす影響の解析

・ 色素細胞や色素幹細胞に特異性の高い Dct-CreER マウスを CRISPR-Cas9 システムを用い樹立した。樹立した Dct-CreER マウスの発現特異性を確認したところ、色素細胞や色素幹細胞において特異性の高い組換えが観察された。次に、メラノーマモデルマウス(Dct-CreER/Braf/Pten マウス)を作製し、タモキシフェン投与や発癌ストレスを負荷したところ、このマウスは背皮、あるいは足裏の汗腺分泌部にメラノーマを発症した。さらに、色素幹細胞の運命追跡実験を行い、メラノーマ細胞は色素幹細胞に由来していることが明らかとなった。

・ Dct-CreER/Braf/Pten マウスにタモキシフェンを投与しメラノーマ誘導をかけ、同時にニッチ因子の阻害剤を投与したところ、阻害剤によりメラノーマの発症が阻害されることを明らかにした。また、ニッチ因子を過剰発現したマウスに発癌ストレスを負荷したところ、より高頻度にメラノーマの初期病変が見られ、一方で欠損マウスではメラノーマの初期病変が抑制された。ニッチ因子がメラノーマ発症において相乗的に働いていることが明らかとなった。

上記の結果は現在論文に投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kato Tomoki, Liu Nan, Morinaga Hironobu, Asakawa Kyosuke, Muraguchi Taichi, Muroyama Yuko, Shimokawa Mariko, Matsumura Hiroyuki, Nishimori Yuriko, Tan Li Jing, Hayano Motoishi, Sinclair David A., Mohri Yasuaki, Nishimura Emi K.	4. 巻 56
2. 論文標題 Dynamic stem cell selection safeguards the genomic integrity of the epidermis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 3309 ~ 3320.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2021.11.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Eshiba Sally, Namiki Takeshi, Mohri Yasuaki, Aida Tomomi, Serizawa Naotaka, Shibata Takakazu, Morinaga Hironobu, Nanba Daisuke, Hiraoka Yuichi, Tanaka Kohichi, Miura Keiko, Tanaka Masaru, Uhara Hisashi, Yokozeki Hiroo, Saida Toshiaki, Nishimura Emi K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Stem cell spreading dynamics intrinsically differentiate acral melanomas from nevi	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109492 ~ 109492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109492	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morinaga Hironobu, Mohri Yasuaki, Grachtchouk Marina, Asakawa Kyosuke, Matsumura Hiroyuki, Oshima Motohiko, Takayama Naoya, Kato Tomoki, Nishimori Yuriko, Sorimachi Yuriko, Takubo Keiyo, Suganami Takayoshi, Iwama Atsushi, Iwakura Yoichiro, Dlugosz Andrzej A., Nishimura Emi K.	4. 巻 595
2. 論文標題 Obesity accelerates hair thinning by stem cell-centric converging mechanisms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 266 ~ 271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-021-03624-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura Hiroyuki, Liu Nan, Nanba Daisuke, Ichinose Shizuko, Takada Aki, Kurata Sotaro, Morinaga Hironobu, Mohri Yasuaki, De Arcangelis Adele, Ohno Shigeo, Nishimura Emi K.	4. 巻 1
2. 論文標題 Distinct types of stem cell divisions determine organ regeneration and aging in hair follicles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Aging	6. 最初と最後の頁 190 ~ 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s43587-021-00033-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Nan, Matsumura Hiroyuki, Kato Tomoki, Ichinose Shizuko, Takada Aki, Namiki Takeshi, Asakawa Kyosuke, Morinaga Hironobu, Mohri Yasuaki, De Arcangelis Ad?le, Geroges-Labouesse Elisabeth, Nanba Daisuke, Nishimura Emi K.	4. 巻 568
2. 論文標題 Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 344 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-019-1085-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sun Qi, Lee Wendy, Mohri Yasuaki, Takeo Makoto, Lim Chae Ho, Xu Xiaowei, Myung Peggy, Atit Radhika P., Taketo M. Mark, Moubarak Rana S., Schober Markus, Osman Iman, Gay Denise L., Saur Dieter, Nishimura Emi K., Ito Mayumi	4. 巻 10
2. 論文標題 A Novel Mouse Model Demonstrates That Oncogenic Melanocyte Stem Cells Engender Melanoma Resembling Human Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12733-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 毛利 泰彰、加藤 智起、芹澤 直隆、松村 寛行、森永 浩伸、西村 栄美
2. 発表標題 加齢性の脱毛や白髪における 幹細胞の関与
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuaki MOHRI, Tomoki KATO, Takahiro AOTO, Naotaka SERIZAWA, Emi K NISHIMURA
2. 発表標題 Niche-derived KITL is essential for self-renewal of melanocyte stem cells under genotoxic stress.
3. 学会等名 第29回日本色素細胞学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 毛利泰彰、青戸隆弘、難波大輔、松村寛之、森永浩伸、西村 栄美
2. 発表標題 色素幹細胞の老化と癌化
3. 学会等名 AMED老化第二回リトリート
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------