

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 山 田 貴 亮

論 文 題 目

皮膚組織の再生に向けた皮膚由来幹細胞に  
関する研究

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	内 田	浩 二
委 員	名古屋大学教授	松 田	幹
委 員	名古屋大学教授	黒 田	俊 一
委 員	名古屋大学助教	柴 田	貴 広

## 論文審査の結果の要旨

表皮や毛球部に存在するメラノサイトは、皮膚や毛髪の色を大きく左右するメラニン色素を合成する。色素脱失や色素増加を特徴とする色素異常症は、皮膚の不均一な色素沈着を生じることから、患者の生活の質（quality of life: QOL）を著しく損なう。現在の治療方法では患者が十分な満足を得られないことや負担が大きい場合があり、色素異常症のメカニズム解明及び新しい治療法の確立が望まれていた。本研究の主旨は、上記の背景を鑑み、幹細胞に着目した色素異常症のメカニズム解明及び改善による健全な皮膚組織の再生を目的とするものである。すなわち、メラノサイトの起源となる色素幹細胞の性質及び色素異常症との関連について解析し、色素幹細胞特異的マーカーの同定、色素幹細胞のメラノサイトへの分化メカニズムの解明及び老人性色素斑における色素幹細胞の役割について追究している。また、多分化能を有する皮下脂肪組織由来幹細胞の能力について、加齢との関連を解析し、皮膚の再生医療への応用性を考察したものである。

## (1) 色素幹細胞特異的マーカーの探索

色素幹細胞は毛包のバルジ領域に存在することから、その局在により分化したメラノサイトと区別することができるものの、皮膚から色素幹細胞だけを分離することは困難であった。マウスの毛包組織において、バルジ領域において高発現する遺伝子を探索した結果、Wnt シグナル経路の受容体である *Frizzled-4* 及び *7* (*Fzd4/7*) を見出した。*Fzd4* 及び *Fzd7* 陽性細胞は、メラノサイトの前駆細胞であるメラノブラストとは異なる細胞であるとともに、*in vitro* においてメラノブラストに遅れてメラノサイトへ分化することが示された。したがって、*Fzd4* 及び *Fzd7* 陽性細胞はバルジ領域に存在するメラノブラストよりも未分化な細胞であることから、色素幹細胞であると考えられ、*Fzd4* 及び *Fzd7* の色素幹細胞マーカーとしての有用性が示された。

## (2) 紫外線による色素幹細胞の分化誘導メカニズムの解析

紫外線は、代表的な皮膚の色素沈着インデューサーであり、メラニン合成を促進する。一方、色素脱失を特徴とする尋常性白斑の治療にも用いられ、毛孔に一致して色素再生を促すことが知られているが、詳細なメカニズムは不明であった。色素保有ヘアレスマウスに UVB を照射した結果、複数の段階を経て皮膚の色素沈着が誘導されることが示された。すなわち、①ケラチノサイトや毛包幹細胞による一過的な Wnt7a の発現亢進、②色素幹細胞におけるβ-カテニンの活性化に伴うメラノブラストへの分化、③メラノブラストの表皮への移動及び毛包内色素幹細胞の増殖、④表皮におけるメラノブラストの増加、メラノサイトへの分化及びメラニン合成の亢進である。また、初期継代のヒト正常メラノサイトを色素幹細胞モデルとして用いた場合においても、Wnt7a/β-カテニンシグナル経路がメラニン合成関連遺伝子の発現を亢進することが

示された。したがって、尋常性白斑の治療における色素沈着過程においても、本経路が色素幹細胞の分化誘導に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

### (3) 老人性色素斑における色素幹細胞系譜のメラニン合成能及び増殖能の解析

露光部に生じる色素沈着斑を特徴とする老人性色素斑 (solar lentigo: SL) では、健常皮膚と比較してメラニン量及び表皮メラノサイトの数が増加している。メラニン合成の律速酵素である tyrosinase (TYR) の発現量を指標に、SL 病変部と健常部において個々のメラノサイトのメラニン合成能を比較した結果、SL 病変部のメラノサイトではメラニン合成能が高いことが示された。したがって、SL の形成には、個々のメラノサイトのメラニン合成能の亢進及びメラノサイトの数の増加の両方が関与することが明らかとなった。さらに、健常部と比較して SL 病変部では、表皮のメラノサイトだけでなく、バルジ領域の色素幹細胞の数も増加していることが明らかとなった。

### (4) 加齢に伴う皮下脂肪組織由来幹細胞の能力変化に関する解析

皮下脂肪組織に存在する幹細胞 (adipose-derived stem cell: ASC) はメラノサイトを含む様々な細胞への分化能を有しているため、再生医療への応用が期待されている。これまでに、マウスの皮下脂肪組織において、p75 neurotrophine receptor (p75NTR) 陽性 ASC が特に高い分化能を示すことが明らかとなっている。3~24 週齢のマウスを用いて解析した結果、加齢とともに p75NTR 陽性 ASC の数及びシャーレへの接着能が低下することが示された。しかしながら、細胞増殖能には差を認めず、脂肪、骨芽、軟骨及び平滑筋細胞への多分化能も一部低下するものの、多分化能は失っていないことが明らかとなった。したがって、幅広い年齢の色素異常症患者へ ASC を用いた皮膚の色素再生が可能であることが示唆された。

以上、本研究は、色素幹細胞特異的マーカーを同定することで、これまで困難であった色素幹細胞の解析を容易にするとともに、紫外線による色素幹細胞の分化メカニズムを解明することで、尋常性白斑の新しい治療法開発への応用が期待される新しい知見をもたらした。また、SL において色素幹細胞の関与を明らかにし、色素異常症における色素幹細胞の重要性を示した。さらに、加齢に伴う ASC の能力の変化を解析することで、ASC が皮膚組織の再生のための細胞の供給源として有用であることを示した。したがって、これらの知見は色素幹細胞及び色素異常症の理解を深めるとともに新規治療方法の開発において大いに貢献するものである。

よって、本審査委員会は、本論文の内容が博士 (農学) の学位論文として十分に価値のあるものと認め、論文審査に合格と判定した。