

72. ニッチを介する幹細胞の維持機構の解明

西村 栄美

Key words : 幹細胞, 色素細胞, 毛包, ニッチ, 白髪

*金沢大学 がん研究所 幹細胞医学研究
分野

緒 言

幹細胞システムは、多くの組織の恒常性維持および組織再生において中心的な役割を果たしている。我々は、色素幹細胞をはじめ同定し、毛に色素を供給する色素細胞の供給源となること¹⁾、その維持に必須の遺伝子が欠損したり、あるいは加齢に伴って、色素幹細胞が維持できなくなると白毛化（白髪）を発症することを明らかにしている²⁾。面白いことに、色素幹細胞の子孫細胞は、いったんニッチ(ニッチェ)を離れても、空のニッチに再び入ると未熟な状態で維持され、以後、再び色素幹細胞として機能できることから、幹細胞周囲の微小環境（ニッチ）が幹細胞の運命を優勢に決定していることが明らかになった¹⁾。幹細胞システムを理解する上で非常に示唆に富む現象ではあるが、その分子基盤は不明である。これまでに色素幹細胞側で必須となるマスター制御因子として MITF 転写因子を同定したが²⁾、細胞外から色素幹細胞の運命を制御するメカニズムについては明らかではない。幸い、色素幹細胞システムは、組織内での幹細胞およびニッチの可視化が可能であるなど、他のシステムにはない多くのユニークな利点を持つ。本研究においては、これらの利点を生かしたアプローチを行い、ニッチ細胞が細胞外からいかにして幹細胞を維持しているのか、そのメカニズムの一端を解明したのでその成果を報告する。

方法および結果

1. 色素幹細胞のニッチの解析

色素幹細胞は、Dct-lacZトランスジェニックマウスを用いると、毛包バルジ領域において Dct-lacZ 陽性の未分化な（メラニン顆粒を持たない）メラノブラストとして同定出来る。バルジ領域には、毛包幹細胞が分布することがわかっているが、色素幹細胞の微小環境（ニッチ）についてはまだ明らかにされていない。そこで、色素幹細胞と直接に接する細胞を同定するべく、免疫組織学的解析を行った。その結果、バルジ領域における Dct-lacZ 陽性の未分化なメラノブラストは、毛包幹細胞のマーカーとして知られるケラチン 15 を発現する細胞と直接に接して存在することが判明した（図 1）。次に、毛包バルジ領域において特異的に発現する分子に着目して免疫組織学的に解析した結果、17 型コラーゲン(COL17A1)が、毛包幹細胞のマーカーを発現する細胞において特異的に発現しており、毛周期を通じてその発現が維持されていることが判明した。

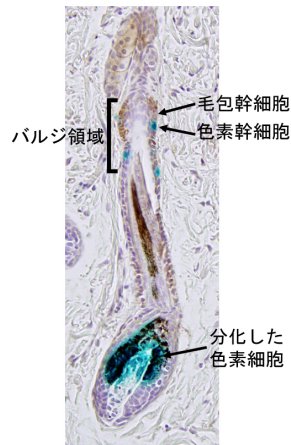


図1. 毛包バルジ領域における色素幹細胞と毛包幹細胞の局在.

Dct-lacZ 陽性の未分化なメラノブラスト (青色：色素幹細胞に相当) と、ケラチン 15 を発現するバルジ細胞 (黄土色：毛包幹細胞に相当) は毛包バルジ領域において隣接して存在する.

2. Col17a1 欠損マウスの解析

Col17a1 遺伝子の欠損マウスを解析し、COL17A1 の毛包における役割について検討した。Col17a1 欠損マウスは、毛が生えかわるごとに次第に白毛化をきたし、これに引き続いて脱毛を示すことが判明した。白毛化と脱毛の原因として、色素幹細胞と毛包幹細胞を維持することが出来ずに白髪と脱毛が進行する可能性を調べるため、Col17a1 欠損マウスの毛包における色素幹細胞および毛包幹細胞のマーカーの発現を調べたところ、白毛化と脱毛に先立って色素幹細胞および毛包幹細胞が消失することが明らかになった。さらに、毛包幹細胞は COL17A1 を発現するが、色素幹細胞においては発現を認めなかった。そこで、Col17a1 の欠損マウスにおいてヒトの COL17A1 をニッチ細胞 (毛包幹細胞) 側で発現するマウスを作製し、解析したところ、色素幹細胞および毛包幹細胞ともに消失せず、白毛化および脱毛ともにレスキューされることが判明した。このことから、COL17A1 を発現する毛包幹細胞が COL17A1 を発現しない色素幹細胞のニッチ細胞として機能することが明らかになった (投稿中)。

3. ニッチ由来因子の同定

毛包幹細胞における遺伝子発現プロファイルをもとに、ニッチに相当するバルジ領域付近に特異的に蛋白発現を認める分子を免疫組織染色を中心に検討した。成長期毛包のバルジ領域において TGF- β とその下流分子の発現を認め、色素幹細胞とニッチにおいて TGF- β シグナルが活性化されていることが明らかになった (投稿中)。

4. 色素幹細胞の維持における TGF- β シグナルの役割

一次培養のメラノブラストを用いて TGF- β の効果を調べたところ、色素細胞の増殖抑制に加えて、未分化性維持に働くことが判明した。さらに、色素細胞のマスター制御因子 MITF の発現、および下流の標的遺伝子群の発現が下方抑制され、実際にメラニン合成が抑制されることが確認できた。最後に、色素細胞特異的に、TGF- β 受容体をコードする *TGF β R2* 遺伝子を欠損する conditional ノックアウトマウス (cKO) を作製し解析したところ、色素幹細胞が早発性にニッチにおいて分化する像が観察され、軽度ながら毛が生え変わる度に白毛化が進行すること、これらの毛包においては色素幹細胞の枯渇が先行することが明らかになった (投稿中)。

考 察

近年、多くの組織の新陳代謝や恒常性維持において幹細胞システムが要となっていることが明らかになっており、組織の再生、老化、癌化を理解する上でも、再生医療を行うにあたって、組織幹細胞システムに対する理解が不可欠である。幹細胞周囲の微小環境が、幹細胞の制御において重要であることがわかっているものの、実際に、機能的に重要な細胞（ニッチ細胞）の実体、およびニッチ細胞が幹細胞を制御する仕組みについては、Drosophila の生殖幹細胞などの一部の幹細胞を除くと、多くの幹細胞システムにおいて依然不明である。我々は、今回、色素幹細胞のニッチ細胞をはじめて同定し、驚くことに毛包幹細胞が色素幹細胞という異なる種類の幹細胞のニッチ細胞として機能していることをはじめて明らかにした。このような例が見つかったのは、下等動物を含めてもはじめてのことであり、今後、同様に他の組織にといても、組織幹細胞が別の組織幹細胞に対してニッチ機能を果たす例が明らかになる可能性がある。さらに、膜貫通性のコラーゲンが毛包幹細胞の維持に必須であること、毛包幹細胞の維持を介して色素幹細胞の維持にも重要であり、加齢とともにみられる白毛化や脱毛を抑制していることがはじめて明らかになった。さらに、ニッチ由来の TGF- β シグナルが色素幹細胞の維持において重要な因子の一つであることが明らかになった。このような組織幹細胞システムを制御する仕組みの解明は、今後の再生医療へと応用する上でも、加齢に伴う多くの難治性疾患を理解する上でも、極めて重要であり、今後著しく発展する分野であると考えている。

最後に、本研究に御支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

主たる共同研究者： 田所優子（金沢大学がん研究所）、谷村心太郎、清水 宏（北海道大学皮膚科）、David E. Fisher（ハーバード大学）

文 献

- 1) Nishimura, E.K., Jordan, S.A., Oshima, H., Yoshida, H., Osawa, M., Jackson, I.J., Barrandon, Y., Yoshiki, M. & Nishikawa, S.I. : Dominant role of the niche in melanocyte stem cell fate determination. *Nature*, **416**(6883):854-860, 2002.
- 2) Nishimura, E.K.*, Granter, S.R. & Fisher, D.E. : Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. *Science*, **307**(5710):720-724, 2005. (*:corresponding authorship)
- 3) McGill, G.G., Horstmann, M., Widlund, H.R., Du, J., Motyckova, G., Nishimura, E.K., Lin, Y-L., Ramaswamy, S., Avery, W., Ding, H-F., Jordan, S.A., Jackson, I.J., Korsmeyer, S.J., Golub, T.R. & Fisher, D.E. : Bcl2 regulation by the melanocyte master regulator Mitf modulates lineage survival and melanoma cell viability. *Cell*, **109**(6):707-718, 2002.
- 4) Du, J., Widlund, H.R., Horstmann, M., Ramaswamy, S., Ross, K., Huber, W.E., Nishimura, E.K., Golub, T.R. & Fisher, D.E. : Critical role of CDK2 for melanoma growth linked to its melanocyte-specific transcriptional regulation by MITF. *Cancer Cell*, **6**(6):565-576, 2004.
- 5) McGill, G.G., Haq, R., Nishimura, E.K. & Fisher, D.E. : c-Met expression is regulated by mitf in the melanocyte lineage. *J. Biol. Chem.*, **14**:281(15):10365-10373, 2006.
- 6) D'Orazio, J.A., Nobuhisa, T., Cui, R.T., Arya, M., Spry, M., Wakamatsu, K., Igras, V., Kunisada, T., Granter, S., Nishimura, E.K., Ito, S. & Fisher, D.E. : Melanocortin-1 signaling in UV induced pigmentation: molecular mimicking and skin protection. *Nature*, **443**(7109):340-344, 2006.
- 7) Sato-Jin, K., Nishimura, E.K., Akasaka, E., Huber, W., Nakano, H., Miller, A., Du, J., Wu, M., Hanada, K., Sawamura, D., Fisher, D.E. & Imokawa, G. : Epistatic connections between MITF and endothelin signaling in Waardenburg syndrome and other pigmentary disorders. *FASEB J.*, **22**(4):1155-1168, 2008.
- 8) Yang, G., Li, Y., Nishimura, E.K., Xin, H., Zhou, A., Guo, Y., Dong, L., Denning, M.F., Nickoloff, B.J. & Cui, R. : Inhibition of PAX3 by TGF-beta modulates melanocyte viability. *Mol. Cell*, **32**(4):554-563, 2008.
- 9) Inomata, K., Aoto, T., Binh, N.T., Okamoto, N., Tanimura, S., Wakayama, T., Iseki, S., Hara, E., Masunaga, T., Shimizu, H. & Nishimura, E.K. : Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation. *Cell*, **137** : 1088-1099, 2009.