

氏 名	前 田 尚 吾
(ふ り が な)	(ま え だ し ょ う ご)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 授 与 番 号	甲 第 号
学 位 審 査 年 月 日	平成 27 年 7 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 名	Blood supply-susceptible formation of melanin pigment in hair bulb melanocytes of mice (マウスの毛包色素細胞におけるメラニン色素形成の血流感受性)
論 文 審 査 委 員	(主) 教授 森 脇 真 一 教授 廣 瀬 善 信 教授 高 井 真 司

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《背景と目的》

毛は毛包のマトリックス細胞が増殖期に分裂して形成され、毛包上部の色素細胞で合成されたメラニン色素が移送されると黒毛になる。したがって、白毛は毛包にある色素細胞が減少あるいは消失することにより引き起こされる。また、先天性白斑のひとつであるまだら症は、先天的に毛包や表皮基底層の色素細胞が欠損しており、その原因として *c-kit* 遺伝子異常が示唆されている。しかし、その白毛を生じる機序には不明な点が多い。我々は移植免疫の実験で、黒毛の C57BL/6 マウスの背部の皮膚を、別の同種同系 C57BL/6 マウスの背部に移植すると移植片は全例生着することを確認したが、その際、移植片上に生える毛の色が主として白毛になることに気付いた。本研究では、この興味深い知見のメカニズムを探るため、各種皮膚と遺伝子改変マウスを用いて白毛が生じる機序について検討

した。

《方 法》

- 1) C57BL/6 マウスの背部から 2×2cm の皮膚を全層で採取し、元の場所に戻して生えてくる毛の色を調べた。
- 2) 白毛が生じる機序を調べるために、C57BL/6 マウスの背部に、1 辺が 2cm の皮膚切開を 2 本平行（体幹に対し水平方向と垂直方向）に加えた 2 種類の皮弁を作成し、生えてくる毛の色を観察した。
- 3) C57BL/6 マウスの背部に、1 辺が 2cm の皮膚切開をコの字型に加えて皮弁を作成した。その際、皮弁内に入る太い 2 本の栄養血管が 2 本、1 本、0 本の 3 種類のモデルを作成し、皮弁の血流と生えてくる毛の色の関係を調べた。
- 4) 白毛と色素細胞の影響を調べるために、メラニン顆粒が主に真皮で過剰に沈着する *HGF-Tg* マウスと、主に表皮基底層で過剰に沈着する *Kitl-Tg* マウスで自己皮膚移植を行った。
- 5) 皮膚移植片と皮弁を採取し、H.E.染色と DOPA 染色を行い、毛包や毛幹の色と、毛包や皮膚に存在する活動性色素細胞の数を計測した。

《結 果》

- 1) 同種同系の皮膚を移植した C57BL/6 マウスの背部の移植片からは全例で白毛が生えてきた。剃毛しても同じように白毛がみられ、最長 5 ヶ月間経過しても白毛のままであった。
- 2) C57BL/6 マウスの背部に 1 辺が 2cm の皮膚切開を平行に加えたモデルでは、水平方向、垂直方向のいずれの皮弁の毛の色は変わらず黒毛であった。
- 3) C57BL/6 マウスの背部のコの字型の皮弁に流入する太い 2 本の栄養血管が 1 本か 2 本では黒毛を認め、0 本では皮弁の先端に白毛が確認された。

- 4) H.E.染色で、皮膚の毛包の数を計測すると、正常皮膚、太い栄養血管 2 本のコの字型皮弁、1 本の皮弁、0 本の皮弁、自己皮膚移植片はそれぞれ、 10.4 ± 1.5 毛包/100 倍視野 [mean $\pm$ SD, n = 5]、 7.8 ± 1.3 、 7.5 ± 2.4 、 7.8 ± 0.8 、 6.2 ± 1.1 で有意差はなかった。
- 5) 活動性色素細胞を有する毛包数を DOPA 染色後計測すると、正常皮膚、太い栄養血管 2 本のコの字型皮弁、1 本の皮弁、0 本の皮弁、自己皮膚植皮片はそれぞれ、 10.4 ± 1.5 DOPA⁺ 毛包/100 倍視野 [mean $\pm$ SD, n = 4 or 5]、 7.0 ± 0.7 、 6.8 ± 1.7 、 1.8 ± 1.3 、 0.4 ± 0.5 で、後 2 者で有意に低下した。
- 6) *HGF-Tg* マウスでは、自己皮膚移植後、白毛が観察され、真皮の毛包以外ではメラニン色素の沈着が認められた。活動性色素細胞を有する毛包数は、移植前の 7.0 ± 0.7 DOPA⁺ 毛包/100 倍視野 [mean $\pm$ SD, n = 5] に比し移植後 (2.6 ± 0.9 , n=5) に有意に低下した。しかし、*Kitl-Tg* マウスでは自己皮膚移植によっても黒毛が生え、移植前後における DOPA⁺ 毛包数/100 倍視野に有意差はなかった。

《考 察》

皮膚血流が低下するにつれて、DOPA 陽性色素細胞の数は減少し、皮弁に流入する太い 2 本の栄養血管が 0 本の場合と自己皮膚移植で白毛が観察された。色素細胞が毛幹に色素を与え黒毛が生えるには太い栄養血管 1 本程度の血流が必要と考えられた。表皮基底層の色素細胞が増生する *Kitl-Tg* マウスは、血流が低下しても毛包の色素細胞は減少せず黒毛のままであり、毛包の色素細胞の維持に c-kit リガンドが関与する可能性が考えられた。先天性白斑や尋常性白斑は、*c-kit* 遺伝子等の欠損や、免疫異常、酸化ストレス等により、皮膚や毛包の色素細胞が欠損、あるいはその活動を休止し皮膚の脱色素や白毛が生じる。酸化ストレスが生じるひとつの原因として血流の低下が考えられる。今回の研究結果から c-kit リガンドを介する皮膚色素細胞の虚血感受性が白毛や白斑発症に関わっている可能性が推測された。また、皮膚血流を改善したり、c-kit タンパクやそのリガンドを局所に用いることで白毛や白斑症の新しい治療法に繋がる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

白毛の原因は様々であるが、その機序については不明な点が多い。本研究において申請者は、マウスの背部の同種同系皮膚移植後、植皮片に白毛が生じる機序を調べるために、植皮や各種皮弁、遺伝子改変マウスでの植皮後の毛の色、毛包数や活動性（DOPA 陽性）色素細胞数等を検討した。

その結果、C57BL/6 マウスの背部に同種同系の皮膚移植を行うと、生着した移植片からは全例で白毛が確認された。背部にコの字型の皮弁を作成し、流入する太い栄養血管の数を 0 本、1 本、2 本としたところ、1 本と 2 本では黒毛を認め、0 本では皮弁の先端に白毛が確認された。活動性色素細胞を有する毛包数を、正常皮膚、太い栄養血管 2 本のコの字型皮弁、1 本の皮弁、0 本の皮弁と自己皮膚植皮片において DOPA 染色で計測すると、後 2 者で活動性色素細胞数が有意に低下した。これらの結果より、申請者は、色素細胞が毛幹に色素を与え黒毛が生えるには、皮膚への太い栄養血管 1 本程度の血流が必要と考えた。

また、遺伝子改変マウスでの自己皮膚移植後、*HGF-Tg* マウスでは白毛が観察され、活動性色素細胞を有する毛包数は移植前に比べて移植後に有意に低下した。一方、*Kitl-Tg* マウスでは、自己皮膚移植前後で毛包の色素細胞数は変化せず黒毛のままであり、申請者は *c-kit* リガンドが活動性色素細胞数の維持に重要と考えた。

先天性白斑や尋常性白斑は、*c-kit* 遺伝子等の欠損や免疫異常、酸化ストレス等により、皮膚や毛包の色素細胞の欠損や、活動の休止が原因と考えられているが、治療法は確立されていない。本研究はそれらの病態が *c-kit* リガンドを介する皮膚色素細胞の血流感受性によることを示唆したものであり、皮膚血流の改善や *c-kit* やそのリガンドの外用投与が、白毛や白斑を来す皮膚疾患に対する新しい治療法を提供する可能性がある。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Plastic and Reconstructive Surgery Global Open e328.
doi: 10.1097/GOX.000000000000028