

メラニン色素が表皮細胞に運ばれる仕組みの解明 ～体表に色がつくメカニズム～

概要

皮膚は、絶え間なく襲いかかる紫外線から体を守ってくれる大切な器官です。中でもメラニンには特に重要で、メラニンが上手く働かないと皮膚ガンなどの原因となります。メラニンは顆粒として色素細胞で作られた後、隣接する表皮細胞へと運ばれることは以前より知られていました（これを「メラニン輸送」と呼びます）。しかしその仕組みは良くわかっていませんでした。この度私達は、新しい最先端技術を用いて、メラニン輸送メカニズムの一端を解明しました。

これまでのメラニン輸送の研究では、色素細胞と表皮細胞を“培養シャーレの上”で解析しており、結論を巡る研究者の意見も分かれていました。私たちの皮膚は3次元（3D）構造をもつ器官です。そこで今回の研究では、3D 皮膚におけるメラニン輸送の瞬間を、ムービー撮影（ライブイメージング解析）することに世界で初めて成功し、これまで知られていなかった新しい仕組みをたくさん見出しました。用いた材料はニワトリ胚です。ニワトリ胚の色素細胞は皮膚全体に広く分布しており、これはマウスとは似ていませんが、ヒトとはよく似ています。

今回の高橋淑子 京都大学大学院理学研究科 教授らの発見は、主に以下の4点です。①まず色素細胞の細胞膜上に、水疱状の構造ができます

（「細胞膜ブレッピング」と呼びます）。②この細胞膜ブレップ内にメラニン顆粒が包み込まれます。③メラニン顆粒を包み込んだブレップが色素細胞からくびれ切れて、膜小胞となって細胞外に放出されます。④放出された膜小胞が、となりの表皮細胞へと取り込まれます。これら一連の過程には、転移ガンなどで知られている R h o 蛋白質が重要な役割をもちます。

今回の研究は、これまで論争になっていたメラニン輸送の議論に対して、一定の決着をもたらしました。そしてこれらの成果は、尋常性白斑や皮膚ガンなどの重篤な病気や、しみ・そばかすといったコスメティックス分野の発展へと寄与できることが期待されます。

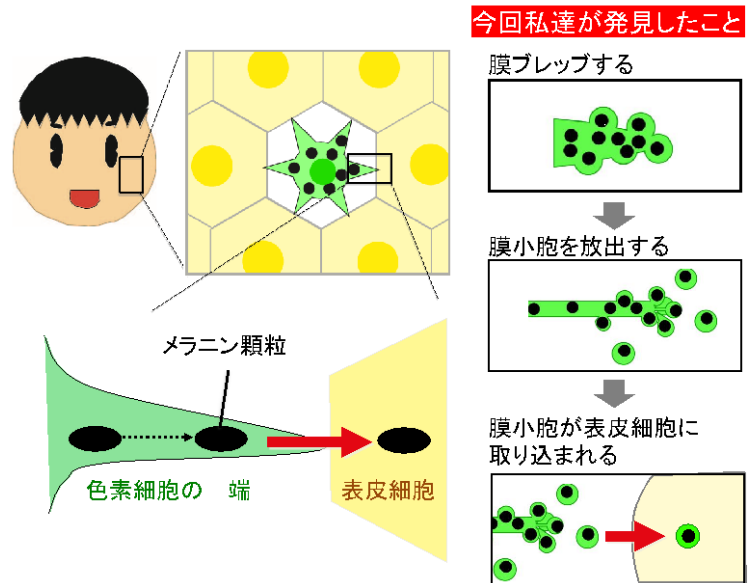


図1.色素細胞（緑色）の中で作られたメラニン顆粒（黒）は周囲の表皮細胞（黄色）に輸送される。今回、私達の解析から明らかになった色素細胞の振る舞いと輸送の過程を示す。

1. 背景

ヒトの体は、外界から絶え間なく襲ってくるUVに曝されています。そのUVから体を守ってくれるのが皮膚であり、中でもメラニン色素は特に重要な働きをもちます。メラニンは色素細胞内で産生され、そして隣の表皮細胞へと輸送されます（表皮はメラニンを作りません）。この過程を「メラニン輸送」といいます。つまり、たとえメラニンが正常に作られても、その後の輸送がうまくいかないと、白斑が起こったり、UVからの防御がうまくできずに皮膚ガンの原因になると考えられます。

メラニン色素の研究は、これまでも長い歴史があります。しかしそのほとんどは、プラスチックシャーレの中で色素細胞と表皮細胞と一緒に培養するという解析手法でした。またそこでは、研究者によって意見が大きく分かれ、論争が続いていました。一方で、細胞の振る舞いが、シャーレと体内とで大きく異なることは、今では良く知られることとなりました。つまりメラニン輸送の本質を掴むためには、実際の体内での解析が必要です。しかしそのような研究は、これまでありませんでした。

そこで今回の研究ではニワトリ胚を用いて、生体内におけるメラニン輸送のしくみを明らかにすべく研究を行いました。ニワトリ胚はマウスとは異なり、ヒトと同じく皮膚全体に広く色素細胞が分布するなど、メラニン輸送の研究に適したモデル動物です。今回私達は、最先端技術を駆使して、メラニン輸送の瞬間を捉えることに成功し、それを映像化しました（ライブイメージング観察）。これらの解析をとおして、これまで知られていなかった新しい仕組みが次々に見出されました。

2. 研究手法・成果

トリ胚は孵卵後10～11日目で、メラニン輸送が起こり始めます。そこでこれらの胚から皮膚を3Dのまま取り出して、コンフォーカル顕微鏡*で高解像度ライブ観察しました。このとき、皮膚に含まれる色素細胞には、あらかじめGFP遺伝子が働くように操作するなど、新しい方法を開発しました。このようにして、生体内とほとんど同じ環境下での色素細胞の動態を可視化することに成功しました。

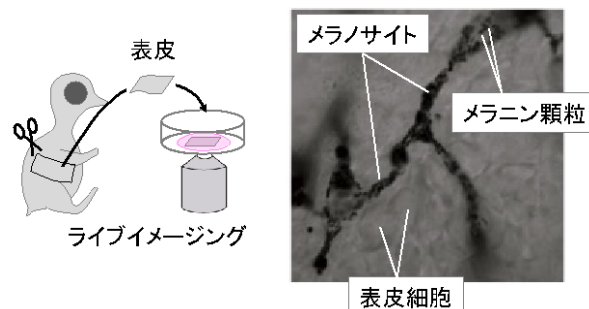
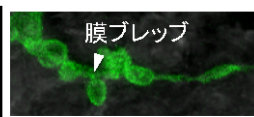
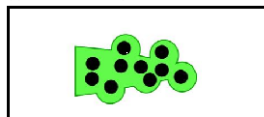


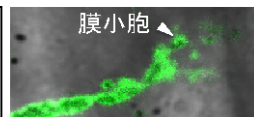
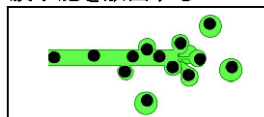
図2.新しく開発した表皮内ライブイメージング法。トリ胚の表皮を切り取り、培養皿の上で培養しながらコンフォーカル顕微鏡を用いてイメージングを行った。

上記方法を用いて発見できたことは、大きく分けて以下の4点です。①色素細胞の細胞膜が波打って、水疱構造を作ることを見出しました。この水疱構造を「細胞膜ブレップ*」と呼びます。②この細胞膜ブレップに、すでに作られていたメラニン顆粒が1つずつ包み込まれていく様子を見出しました。③続いてメラニン顆粒を包み込んだブレップが色素細胞からくびれ切れて、小胞となって細胞外に放出されることがわかりました。④さらに放

膜ブレップする



膜小胞を放出する



膜小胞が表皮細胞に取り込まれる

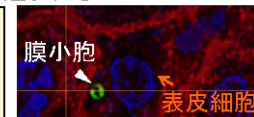
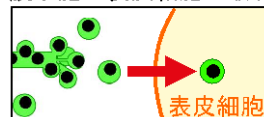


図3.今回私達が発見した、表皮内の色素細胞の細胞挙動を示す。細胞膜ブレップ(上段)を行ったのち、メラニン顆粒を含む膜小胞が細胞外に放出される(矢頭)(中段)。放出された膜小胞は周囲の表皮細胞によって取り込まれる(下段)。下段の図において、膜小胞を緑蛍光、そして表皮細胞は赤色蛍光によって染色した。

出された膜小胞が、となりの表皮細胞に貪食*されて取り込まれ、最終的に表皮細胞の核を守ることがわかりました。これら一連の過程には、転移ガンなどで知られている R h o 蛋白質*が必要であることを実験的に証明しました。

これらの現象は、体内で実際に起きている現象、あるいは限りなく近いものであり、メラニン輸送が細胞膜小胞を介して起こるといふ、決定的な結論を導くことができました。

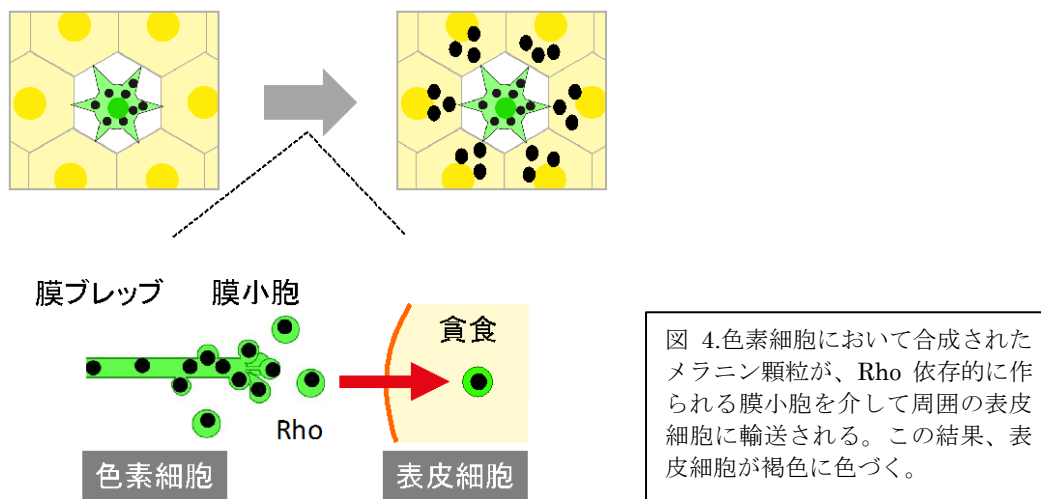


図 4.色素細胞において合成されたメラニン顆粒が、Rho 依存的に作られる膜小胞を介して周囲の表皮細胞に輸送される。この結果、表皮細胞が褐色に色づく。

3. 波及効果、今後の予定

体表色素が密接に関わる局面は、枚挙に暇がありません。それは尋常性白斑や皮膚ガンなどの重篤な病気から、しみやそばかすなど化粧品関連産業にいたるまで幅広いものです。化粧品産業についていえば、色素細胞内のメラニン合成に関する研究とその応用はこれまでも注力されてきたものの、肝心のメラニン輸送の機構がブラックボックスのまま放置されていたために、決定的な商品開発が頓挫しているのが現実です。

しかし私達は基礎科学者として、化粧品開発を越えたさらなる未来を見据えた社会貢献を目指しています。というのも、メラニンによる体表着色は、UV からの生体防御のみならず、生物多様性の問題に深く関わっているからです。たとえばトリや哺乳類の体表模様は、個体識別や生殖戦略に欠かせないものです。また野生の動物は、敵から身を隠すための体表カモフラージュという能力も獲得しています。これらの体表戦略が動物の進化の過程でどのように獲得されたかを理解することは、生物多様性の成り立ちとその保全にとって必要不可欠なものです。このように本研究の成果は、細胞間コミュニケーションというマイクロレベルから、動物間コミュニケーションというマクロレベルまでを包有するものであり、基礎研究が開く社会貢献のよいモデルと位置づけられます。

4. 研究プロジェクトについて

日本医療研究開発機構 AMED-CERST、日本学術振興機構科学研究費基盤研究 (C) の支援を受けました。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Melanosome transfer to keratinocyte in the chicken embryonic skin is mediated by vesicle release associated with Rho regulated membrane blebbing.

著者 : Ryosuke Tadokoro (田所竜介 助教), Hidetaka Murai (村井英隆), Ken-ichiro Sakai (酒井謙一郎),

Takahiro Okui (奥井貴大), Yasuhiro Yokota (横田泰宏) and Yoshiko Takahashi (高橋淑子 教授)

掲載誌: *Scientific Reports*

<用語解説>

コンフォーカル顕微鏡: 高解像度で3次元画像を取得できるレーザー顕微鏡。培養装置なども備えておりライブイメージングに欠かすことのできない解析システムである。

細胞膜ブレップ: 細胞膜が水泡状に突出と退縮を繰り返す現象。近年、ガン細胞が3D環境を移動する時に見られる動きとして注目されている。

膜小胞: 細胞膜から作られる小胞で、細胞内の物質を包んで細胞外に放出する運び手として働く。ガン細胞や血球細胞をはじめとした細胞において、マイクロRNAやタンパク質分解酵素などの輸送手段として注目されている。

貪食: 細胞が大きな物質を食べること。免疫細胞がアポトーシス細胞や病原体を取り込むときに用いられる方法として知られている。

Rho: 細胞骨格の制御を通して、細胞移動などに関与する低分子量Gタンパク質として知られる。ガン細胞の転移においても重要な役割を果たす。