

Title	Akt activation induces epidermal hyperplasia and proliferation of epidermal progenitors
Author(s)	村山, 一茂
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47356
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	むら やま かづ しげ 村 山 一 茂
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20921 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Akt activation induces epidermal hyperplasia and proliferation of epidermal progenitors (Akt 活性化による表皮の過形成と前駆体細胞の増殖)
論文審査委員	(主査) 教授 仲野 徹 (副査) 教授 宮崎 純一 教授 岡田 雅人

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

組織幹細胞は、厳密に制御された増殖と分化により各臓器の恒常性を維持している。これまでに、我々の研究室では、phosphoinositide 3-kinase (P13K)/Akt シグナルが、胚性幹細胞 (embryonic stem cell : ES 細胞) の未分化性を維持すること、始原生殖細胞 (primordial germ cell : PGC) から胚性生殖細胞 (embryonic germ cell : EG 細胞) への脱分化を促進すること、を明らかにしている。しかし、組織幹細胞における、P13K/Akt シグナルの機能については、不明な点が多い。

表皮には、少なくとも 2 種類の幹細胞が存在する。1 つは、毛包間表皮の基底層に存在し、活発に増殖をおこなう前駆体細胞を産生することで、表皮の階層構造を保持する。もう 1 つは、毛包のバルジに存在する幹細胞である。毛周期は、休止期、成長期、退行期のサイクルから構成され、毛周期が、休止期から成長期へ移行することで発毛が誘導される。この移行の際、休止状態にあるバルジの幹細胞が活性化し、高い増殖能をもつ前駆体細胞を産生する。本研究では、この表皮幹細胞システムに与える、Akt シグナル活性化の影響を解析した。

[方法ならびに成績]

Akt-Mer は、活性化型 Akt と変異型エストロゲン受容体から成る融合タンパクである。Akt-Mer は、Mer のリガンドである 4-hydroxytamoxifen (4OHT) の非存在下では酵素活性を示さないが、4OHT 添加により速やかに酵素活性が誘導される。マウスにおいて Akt シグナルをコンディショナルに制御するために、Akt-Mer を全身で発現するトランスジェニックマウス (Akt-Mer マウス) を作製した。

マウスにおいて、毛周期は、生後しばらくの期間同調しており、6 週齢において、毛包は休止期に入ることが知られている。そのために、6 週齢の野生型マウスにおいて背部を剃毛すると、以降 3 週間の間に発毛が誘導されることはない。しかし、6 週齢の Akt-Mer マウスを剃毛し 4OHT を塗布したところ、全例で発毛が誘導された。Akt が活性化されたマウスの組織学的解析をおこなったところ、表皮や毛包の過形成に加えて、毛幹部の真皮側への伸張が観察された。この結果は、Akt シグナル活性化は、休止期の毛包を成長期へと移行させることを示している。

表皮や毛包の過形成が認められたので、増殖マーカーである Ki67 抗体を用いた免疫染色をおこなった。その結果、毛包間表皮においては、基底層で、Ki67 陽性細胞が顕著に増加していた。さらに、毛包においては、成長期に前駆体細胞が盛んに増殖をおこなう外毛根鞘 (outer root sheath ; ORS) で、多くの Ki67 陽性細胞が認められた。

次に、幹細胞と前駆体細胞の動態を調べるため、幹細胞マーカーである CD34 と $\alpha 6$ -integrin に対する抗体を用いて、FACS 解析をおこなった。その結果、幹細胞を含む画分 (CD34⁺ $\alpha 6$ ^{high}) の割合には変化が認められなかったが、前駆体細胞を含む画分 (CD34⁺ $\alpha 6$ ^{low}) の割合が有意に増加していた。さらに、これらの画分を用いてコロニーアッセイをおこなったところ、前駆体細胞画分において、holoclone 形成能が上昇していた。以上の結果から、Akt シグナルの活性化は、基底層と ORS において、前駆体細胞の増殖を促進することが示された。

[総 括]

Akt のリン酸化酵素活性を自在に制御できる Akt-Mer マウスを用いて、Akt シグナル活性化が表皮幹細胞システムに与える影響を調べた。まず、Akt シグナルは、休止期の毛包を成長期へと移行させることを見出した。この結果は、Akt シグナルにより休止状態にある毛包幹細胞が活性化し、高い増殖能と分化能をもつ前駆体細胞を産生したことを示している。次に、Akt シグナルは、基底層と ORS に存在する前駆体細胞の増殖を促進し、上皮と毛包の過形成を引き起こすことを示した。

幹細胞は、自己複製能と、前駆体細胞を産生する能力をもつ。ES 細胞や PGC においては、Akt シグナルは自己複製を促進するシグナルであることが示されている。本研究において、Akt シグナルは、休止状態にある毛包幹細胞を活性化することで前駆体細胞を産生すること、表皮と毛包の前駆体細胞の増幅を促進すること、を明らかにした。造血幹細胞において PTEN を欠損させると、皮膚上皮幹細胞の場合と同様に、造血幹細胞および前駆体細胞の増殖を促進することが報告されている。このように、P13K/Akt シグナルは、表皮幹細胞や造血幹細胞などの組織幹細胞においては、前駆体細胞の産生や増幅を制御することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

胚性幹細胞や始原生殖細胞において、Akt シグナルが、幹細胞の未分化性を制御するシグナルとして機能することがわかっている。一方、組織幹細胞における、Akt シグナルの機能については、わかっていないことが多い。組織幹細胞は、自己複製と前駆細胞の産生を繰り返すことで、組織の恒常性維持に重要な役割を果たしている。従って、その幹細胞システムを制御するメカニズムを理解することは意義深い。

本研究では、Akt-Mer 融合タンパク質を発現させることで、コンディショナルに Akt シグナルを制御できるトランスジェニックマウスを作製した。そして、成体の、表皮基底層と毛包の幹細胞における Akt シグナル活性化の影響を解析した。その結果、Akt シグナルの活性化により、幹細胞が活性化して前駆細胞を産生すること、また、産生された前駆細胞の増殖が亢進することを明らかとした。この結果から、作用する幹細胞によって、Akt シグナルを活性化した時の影響が異なることがわかった。今後、幹細胞の活性化メカニズムの違いを利用することで、特定の幹細胞や前駆細胞を増殖させる技術の誕生が期待される。

これらのことから、本研究は、博士 (医学) の学位授与に値すると考える。