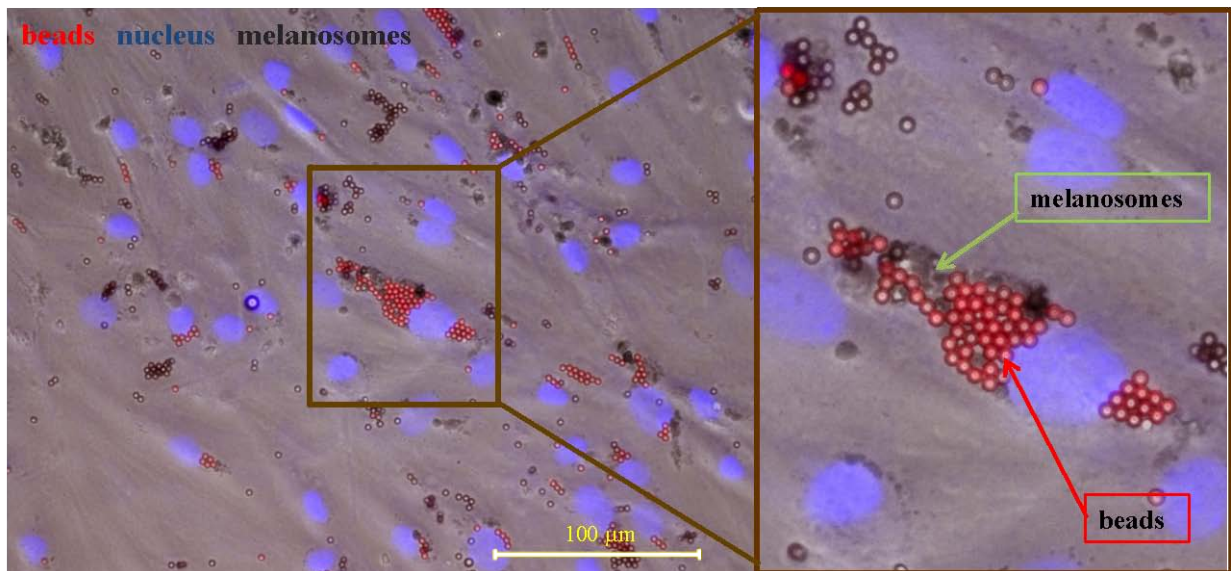


#### [4. ヒト皮膚における恒常性の維持と貪食細胞の役割]

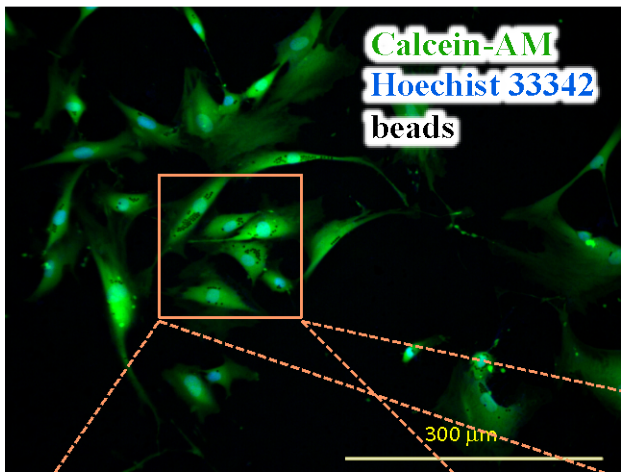
老人性色素斑等のヒト真皮層における色素沈着は、メラノソームが何らかの細胞に貪食されることによって引き起こされますが、この細胞の存在や由来については不明な点が多くあります。そこで真皮層の主要な細胞であるヒト皮膚線維芽細胞（HDF）がメラノソーム貪食に関与しているかを検討する目的で、HDFの貪食能を定量的に測定できるアッセイ系を確立しました。確立したアッセイ系は、HDFに磁気ビーズを貪食させ、測定時に Calcein 染色で細胞質を染色することで、HDF のひとつひとつが何個ビーズを貪食したかを測定するものです。HDF にメラノソームと磁気ビーズを同時に添加した際、HDF はその両者を区別することなく貪食しており、磁気ビーズを用いることでメラノソームに対する貪食能を擬似的に評価できるものと考えています。

さらにこの系を詳しく調べると、明らかに多くの磁気ビーズを貪食している細胞が存在することに気が付きました。これらの細胞を、磁石を用いて分離しました。多く磁気ビーズを貪食し、磁石に引きつけられた細胞を high-voracity cell (HV-cell)、貪食能の低く、磁石に引きつけられなかった細胞を low-phagocytic cell (LP-cell) と名付けた。HV-cell が色素沈着に関与しているかを解析するため、真皮層でおこる老人性色素斑モデルで実験を行いました。紫外線による皮膚刺激の蓄積が老人性色素斑の形成に関わることはよく知られているため、HDF に紫外線の UVA を照射した際の、HV-cell および LP-cell の割合がどのように変化するかを定量的に比較しました。

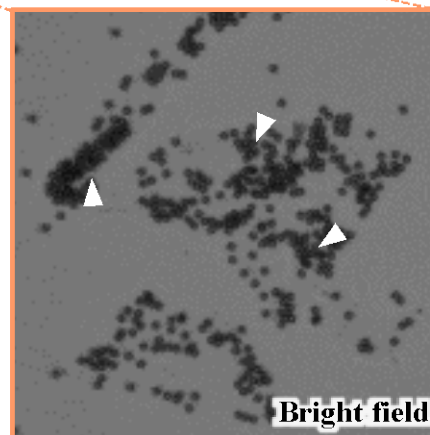
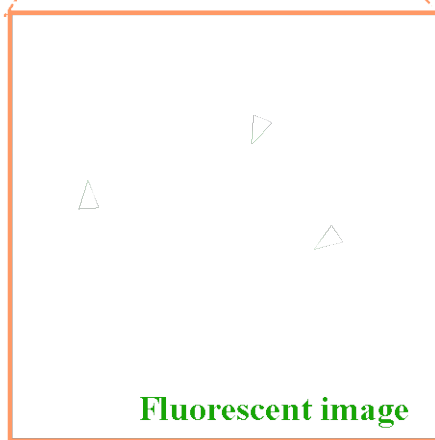
これらの実験と並行して、HV-cell と LP-cell から RNA を抽出し、DNA チップ解析を行い、遺伝子発現の網羅的解析を行いました。両者の間で大きく発現が変化した遺伝子は見つからなかったものの、HV-cell で発現が亢進した 12 の遺伝子を HV-cell のマーカー遺伝子の候補とすることができました。さらに、その中から 6 つの遺伝子に関しては、半定量的 PCR を行い、HV-cell で発現量が 2-4 倍亢進することを確認しました。今後、HV-cell の分子メカニズムを解析していくことによって、真皮層の色素沈着形成メカニズムの解明に繋がると期待しています。



ヒト皮膚線維芽細胞によるビーズとメラノソームの貪食。ヒト線維芽細胞にメラノソームと磁性ビーズを同時に添加すると、線維芽細胞はどちらも同様に貪食した。このことは、ビーズを用いることでメラノソームの貪食能を評価できることを示している。さらに、線維芽細胞の中で特に貪食能の高い細胞が存在していると思われる。



- ✓ Calcein-AM stained the cytoplasm.
- ✓ Phagocytosed beads excluded the cytoplasm and appeared in black dots.
- ✓ The beads, which were not phagocytosed, were stacked underneath the cell and could not be observed in the fluorescent images.



線維芽細胞貪食能の評価法。カルセインで細胞質を染色すると、貪食されたビーズにより細胞質が排除され、黒く抜けてみえる。それをカウントすることで、個々の線維芽細胞が何個のビーズを貪食したかを調べることができる。