

### 臨床からの原因究明(III)

日本人モデルマウスを使用したロドデノール誘発性脱色素斑に関する研究

研究分担者 鈴木民夫 山形大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授

#### 研究要旨:

日本人モデルマウス(hk14-SCF Tg+ HRM)を使用してRD誘発性脱色素斑を再現したモデルマウス作成に成功した。それを用いたRD脱色素斑発症機序を解析し、RD外用により表皮のメラノサイトが減少・消失していることを確認した。また、紫外線が色素再生には有効であることを明らかにした。このモデルマウスは今後のRD脱色素斑発症機序の解析に有用である。

#### A. 研究目的

ロドデノール誘発性脱色素斑(RD誘発性脱色素斑)の発症病態は未だ不明であり、現段階で21%の患者で脱色素斑部の色素再生が認められておらず、適切で効果的な治療法の確立が望まれている。そこで、我々は病態解明と治療法の確立の双方の観点より、我々が独自に開発した**日本人皮膚モデルマウス(hk14-SCF Tg+ HRM)**を使用して、RD誘発性脱色素斑を再現したモデル動物を作成し、それを用いた脱色素斑発症機序の解明と有効な治療法の確立を目的とする。モデルマウスの確立は、臨床サンプルでは難しい多くの研究的試みを可能にすることができる。

#### B. 研究方法

**日本人モデルマウス**は、國貞隆弘博士(岐阜大教授)との共同研究により、新たに作成したhk14-SCF Tgマウスで、体幹の色素沈着が日本人のそれに近い系統を選択し、さらにヘアレス化した。皮膚色は日本人のそれに近い。生検した表皮を抗melan-A抗体で染色すると、**表皮基底層にメラノサイトを認め、その数はヒト表皮におけるメラノサイトとほぼ同様である。**

まずは、日本人モデルマウスを使用してRD誘発性脱色素斑の再現実験を行い、効率的に脱色素斑を発症する条件を確立する。そのうえで、RD誘発性脱色素斑発症マウスを使用して発症機序解明と治療法の開発を行う。発症機序解析は、免疫組織学的手法や電子顕微鏡的観察に加え、生化学的な手法も用いる。

#### (倫理面への配慮)

本研究は本学の動物実験委員会により、承認され

ている。

#### C. 研究結果

日本人皮膚モデルマウスに30%RD溶液(溶媒:50%エタノール)を背部に3回/日、外用したところ、2週間後には同部位に脱色素斑が生じた(図1A-D参照)。脱色素斑はまだら様であり、RD脱色素斑患者の皮疹と極めて類似していた。次に、それぞれのマウスの脱色素斑部より皮膚生検を施行し、フォンタナ・マッソン染色をしたところ、メラニンがほぼ消失していた。また、抗メラニンA抗体による免疫組織染色では、表皮基底層のメラノサイトの減少・消失が認められた。

これらの所見はRD脱色素斑患者にみられた所見とほぼ同様であった。そこで、塗布日数別に皮膚生検し、メラノサイトの数を測定した。その結果、図2に示すようにRD溶液塗布7日目には、多くのメラノサイトが表皮から減少・消失していることが分かった。なお、同様に実験を日本人皮膚モデルマウスでチロシナーゼ活性がないアルビノマウスを用いて行なったところ、表皮メラノサイトの減少は認められなかった。以上の結果より、ロドデノールによる細胞毒性はチロシナーゼ依存性であることが、in vivoの系で明らかにできた。

治療法について検証した。まずは、タクロリムス軟膏をRD脱色素斑部に外用した。その結果、観察期間の7週間で、コントロールとして用いたワセリンを外用した部位に比べ、明らかな色素再生増強効果は認められなかった。つまり、今回用いたモデルマウス

では、ワセリン外用部位にも順調な色素再生が認められ、タクロリムス軟膏の効果は確認できなかった。次に紫外線照射による効果を調べた。その結果、UVB照射により色素再生がより増強されていることが確認できた。

#### D. 考察

RD 誘発性脱色素斑のモデルマウスを作製することができた。RD 外用により、表皮のメラノサイトが減少・消失しており、患者の皮膚で認められた変化と同様な所見を得ることができた。

有効な治療法の開発については、今回はタクロリムス軟膏の外用と紫外線照射による色素再生効果を調べた。前者の効果は確認できなかったが、紫外線 (UVB) の効果については確認できた。今後も、他の治療法の効果について検証することが可能である。

#### E. 結論

RD脱色素斑モデルマウスを使用した本研究により、明らかになった。

1. ロドデノール外用により、表皮メラノサイトが減少・消失する。
2. ロドデノールの細胞毒性はメラノサイト特異的であり、チロシナーゼ依存性である。
3. 紫外線照射は脱色素斑部の色素再生増強効果が認められた。

#### F. 研究発表(平成 27 年度)

##### 論文発表

1. Tanemura A, Yang L, Yang F, Nagata Y, Wataya-Kaneda M, Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, Katayama I: An immune pathological and ultrastructural skin analysis for rhododenol-induced leukoderma patients. *J Dermatol Sci*. 77:185-188 (2015)
2. Okamura K, Ohe R, Abe Y, Ueki M, Hozumi Y, Tamiya G, Matsunaga K, Yamakawa M, Suzuki T: Immunohistopathological analysis of frizzled-4-positive immature melanocytes from hair follicles of patients with Rhododenol-induced leukoderma. *J Dermatol Sci* 80: 156-158, (2015).
2. 実用新案登録  
無し
3. その他

3. Abe Y, Okamura K, Kawaguchi M, Hozumi Y, Aoki H, Kunisada T, Ito S, Wakamatsu K, Matsunaga K, Suzuki T: Rhododenol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin. *J Dermatol Sci*. 81(1):35-43 (2016)

##### 学会発表

1. 第 114 回日本皮膚科学会総会 横浜 2015.5.29-31 教育講演「白斑:ロドデノール誘発性脱色素斑 up to date!」病態解明その3 動物モデルからわかったこと 阿部優子、鈴木民夫
2. The 23<sup>rd</sup> World Congress of Dermatology, Vancouver, Canada, June8-13, 2015 “Histopathological investigation on patients with Rhododenol-induced leukoderma” Okamura K, Abe Y, Yoshizawa J, Ohe R, Yamakawa M, Hozumi Y, Suzuki T
3. The 23<sup>rd</sup> World Congress of Dermatology, Vancouver, Canada, June8-13, 2015 “Rhododenol-induced leukoderma” T. Suzuki
4. 第 26 回日本色素細胞学会学術大会 札幌 2015.11.14-15 ”ロドデノール誘発性脱色素斑の病態:動物モデルと遺伝子解析”阿部優子、岡村賢、穂積豊、田宮元、鈴木民夫
5. 第 40 回日本研究皮膚科学会 2015.12. 11-13 “Immunohistopathological analysis immature melanocytes from hair follicles of patients with Rhododenol-induced leukoderma” Okamura K, Ohe R, Abe Y, Ueki M, Hozumi Y, Tamiya G, Matsunaga K, Yamakawa M, Suzuki T

#### H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得  
無し

無し