

特 別 講 演 要 旨

色素細胞系

—生命機能発現機構解明の1モデルシステム—

The mammalian pigmentary system - a model experimental system for exploring the functional divergence of a differentiated cell type

山本 博章

Hiroaki Yamamoto

長浜バイオ大学バイオサイエンス学部

Faculty of Bioscience

Nagahama Institute of Bio-Science and Technology

There are two cell lineages of mammalian melanin pigment cells, one that leads to retinal pigment epithelium (RPE) cells in the eye from the optic cup and the other leading to melanocytes from vertebrate-specific neural crest cells. Melanocyte precursors have high mobility and migrate and settle into various tissues and organs, including the skin, choroid, inner ear, heart, brain, adipose tissue, lung, etc. It is well known that RPE cells are essential for visual acuity and that melanocytes in the skin provide protection against UV-damage. So, what is the function of extracutaneous melanocytes that are distributed elsewhere in the body where only very small amounts of light illuminate their existence? Here I would like to briefly introduce our research history and then discuss the important roles of melanocytes in the inner ear that are indispensable for hearing ability and those in the choroid where they seem to contribute to maintaining the structures of their habitats.

はじめに

毛は哺乳動物の特徴の一つであるが、その色を決めるメラニン産生細胞はメラノサイトと呼ばれ、脊椎動物特異的な胚組織である神経冠(堤)から発生分化し、全身に移動・定着する。一方発生中の脳に由来し、神経網膜との領域化を経て一層の色素細胞集団として分化するのが網膜色素上皮である(図1)¹。この2系譜を持つ哺乳動物メラニン色素細胞系は、その可視的な分化形質から、古くより発生遺伝学的な研究対象となり、生理学的にもまたより広範には生態学的な興味も惹起してきた。QOLに関わる臨床研究分野も鑑みるに、色素細胞系は基礎から応用までの広い興味の対象となっている。この

ような現況にあっても、これら2系譜の細胞集団の役割やその機能発現機構の解明にはまだまだ継続した努力が必要で、他の科学領域同様、常に新たな課題が提起されている。

例えば、一層の RPE 細胞群は視覚に必須であり、皮膚に移動し定着したメラノサイトの紫

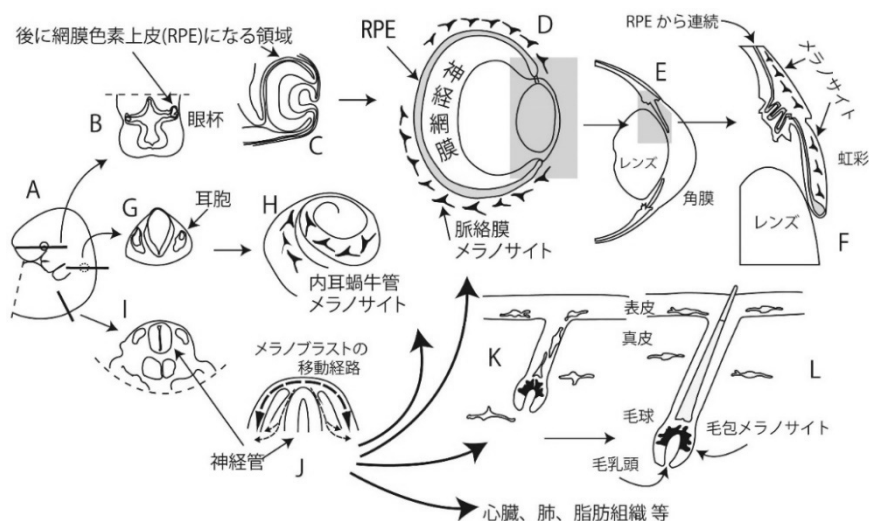


図1 哺乳動物メラニン色素細胞の発生系譜

Aは受精後10.5日のマウス胚であり、それぞれの線分での切断面を模式的に示した(B, G, I)。網膜色素上皮(RPE)は眼杯(B, C)から分化し、一層の細胞層を形成する(D, E, F)。胚の背側に形成される脊椎動物特異的な神経冠(堤)に由来するメラノブラスト(メラノサイト前駆細胞)は全身に移動して定着し(D, F-L)、メラノサイトに分化する。文献1を一部改変。

外線防御への関与はよく知られているものの、強い光が到達しない皮膚以外の組織や臓器を棲み処とすることになったメラノサイト集団は何を行っているか、まだ多くの解析を必要としている。ここでは、我々のグループが小眼球症関連転写因子・Mitf (microphthalmia-associated transcription factor) をコードする遺伝子の変異体に関わることになったきっかけから、個人的な思い出が多くて恐縮だが、紹介させていただきたい。

1. マウスチロシナーゼの精製と cDNA スクリーニング

マウスの色素細胞や毛色を対象として発生遺伝学的な解析を進めていた故竹内拓司教授の研究室のメンバーの一員に私も加えてもらったころ (1970 年代後半)、当該分野では、メラニン産生細胞におけるメラニン合成の鍵酵素はチロシナーゼ (tyrosinase、タイロシネース) か否か、激しく論争されていた^{2,3}。チロシンの酸化能だけでなく、例えば、この酵素を組織化学的に検出し、その局在を解析する際に常法としてすでに利用されていた方法で、DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine、ドーパ) を基質にして、(チロシナーゼが持つとされてきた) ドーパオキシダーゼ活性による色素沈着を観察・解析する手法により得られてきた成果は、本当にメラニン合成の過程を検出していたことになるのか、ということでもあった。メラニン合成を可能にする酵素は、メラニン産生細胞を特徴づける最重要分化マーカーの 1 つであるので、我々にとって大問題であった。そこで、それまでの多くの解析に用いられてきた部分精製標品ではなく、メラニン産生細胞からドーパオキシダーゼ活性をもつ酵素を精製し、それがチロシンを基質にでき、メラニン合成に関与できる性質を持っているかどうか、確認してみようとなった。

マウスメラノサイトのがん細胞である B16 メラノーマ細胞を材料に、ドーパオキシダーゼ活性を追って精製を進めた。この酵素活性の大

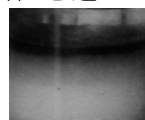


図 2
DEAE セル
ロースに結
合したメ
ラニン

部分が不溶性画分にあるため、当時の手法では精製が容易ではなかったが、電気泳動的に単一のタンパク質バンドで、ゲル上でもドーパオキシダーゼ活性を示す標品を得ることができた。この精製酵素は、チロシンの酸化能を持っていたのである。調製した抗体を用いて、当時はやりだした酵素抗体法による電頭

レベルの観察を行ってみると、ドーパオキシダーゼの活性部位である GERL (Golgi-ER-Lysosome) 領域にその抗原としての局在を検出することができた⁴。そういえばチロシナーゼ精製時のメラニンの挙動に驚いたのもこのころである。図 2 はこの過程で用いた DEAE セルロースにメラニンが強力に結合し、塩の濃度勾配で酵素を溶出する際にも、一部は下方に移動を始めるものの、メラニンはほとんどこの位置に留まることであった。難儀して精製したチロシナーゼからは、限定分解したいくつかのフラグメントのアミノ酸配列情報を得ることができた。これは発現系のラムダファージを用いたマウスチロシナーゼ cDNA のクローニング時に大いに役立つことになった。抗体を用いた最初の一次スクリーニング時に、フィルター上のアルカリフォスファターゼ (二次抗体標識用) による反応産物のドットがゆっくりと見えてきたときの気持ちは、その場にいっしょにいた竹内栄先生 (現岡山大学・院自然) も同じであったと思う。二次スクリーニング以降のはっきりした反応でもう確信に変わっていった。前世紀 1980 年代のことである⁵。技術の革新とバイオリソースの充実により、現在では同様のスクリーニング時の感激を味わうことはもうほとんどないのかもしれない。

2. チロシナーゼ遺伝子の制御領域に保存されたシスエレメント

その後、このマウスチロシナーゼの組織特異的発現を解析する端緒として、ゲノム DNA の 5' 調節領域をクローニングし (自作ゲノムライブラリーを調製して後)、そこにマウスチロシナーゼ cDNA をつないで、当該遺伝子の変異体でメラニン合成を欠損するマウスアルビノから得られた培養メラノサイトにメラニン合成を行わせ⁶、続いてアルビノマウスにこのミニ遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製し、その表現型をレスキュー (メラニン合成による野生型毛色の発現) できたことで⁷、我々が精製したドーパオキシダーゼが間違いなくメラニン合成の鍵酵素・チロシナーゼであり、抗体を用いてクローニングした cDNA がチロシナーゼをコードすることがようやく広く認められた。ドーパオキシダーゼを指標とした当該酵素活性部位の局在が、メラニン合成の鍵酵素・チロシナーゼの局在として理解してよいことも確認できたことになる。

ではこの調節領域の保存性はどうか、次の課題となった。これも当時は比較的新しい試みであった。その結果、アルビノマウスに色素合成

を組織特異的に引き起こすことができる 5' 調節領域に、ニワトリやウズラまたスポンで保存された短い配列があることに気づいた。このフラグメントはチロシナーゼ関連遺伝子 *Tyrl* にも保存されていたので、早くからグループに加わってくれていた工藤季之先生(現就実大・薬)も一緒に、我々は p-MSE (proximal-melanocyte-specific element) と名付けて学会報告を重ねたが⁸、英国の 1 グループは、この配列を M ボックスと呼ぶようになった⁹。M はメラノサイト (melanocyte) やメラニン (melanin) を意識したことは明らかで、簡略で強く、分かりやすいこの呼称は瞬く間に広まり、今や当該分野ではこちらが普通になっている。いかに名前を付けるのが大事か、勉強させて頂いた。ではこのシスエレメントに結合する転写因子は何か、である。かのグループは転写因子のハードコア集団と自ら明言していたほどの当該領域の専門家集団で、この保存された配列の中に bHLH タイプの転写因子の結合サイトがあることを当初より意識していたらしい。彼らとは後に共同研究者となり今でも交流が続いているが、まさに当該タイプの転写因子が、「棚から牡丹餅」様に明らかになった。

3. チロシナーゼ遺伝子の転写調節領域には、すべてのメラニン色素細胞の発生を支配する転写因子が結合する

ある時、ひょんなことからそれまで小眼球症遺伝子座 (microphthalmia locus; *mi*) と呼ばれてきたマウスの遺伝子座がクローニングされた。それはトランスジェニックマウスを作製していた 2 グループからほぼ時を同じくして報告された。彼らの作製した tg マウスが、小眼球症で全身が真っ白になる表現型を発現したのである。ほどなくして、小眼球症関連転写因子と再命名されたこの因子がまさに上記 M ボックスに結合することが報告された。この辺のいきさつは Goding のレビューに詳しい⁹。

4. 小眼球症関連転写因子遺伝子・*Mitf* は全てのメラニン色素細胞の発生を支配する

哺乳動物のメラニン色素細胞の発生系譜は前述のように 2 経路である (図 1)。図 3¹⁰ は *Mitf* アレルの可視的な表現型を示している。これらを注視すると、あるアレルを持つ個体は、眼が開かず全身白毛色となるものから、小眼で赤眼様を呈しさらには全身白毛色となるもの、眼のサイズは野生型と顕著な差は認められないものの赤眼となり全身白毛色の個体、通常サイズの黒眼は野生型同様であるが全身白毛色

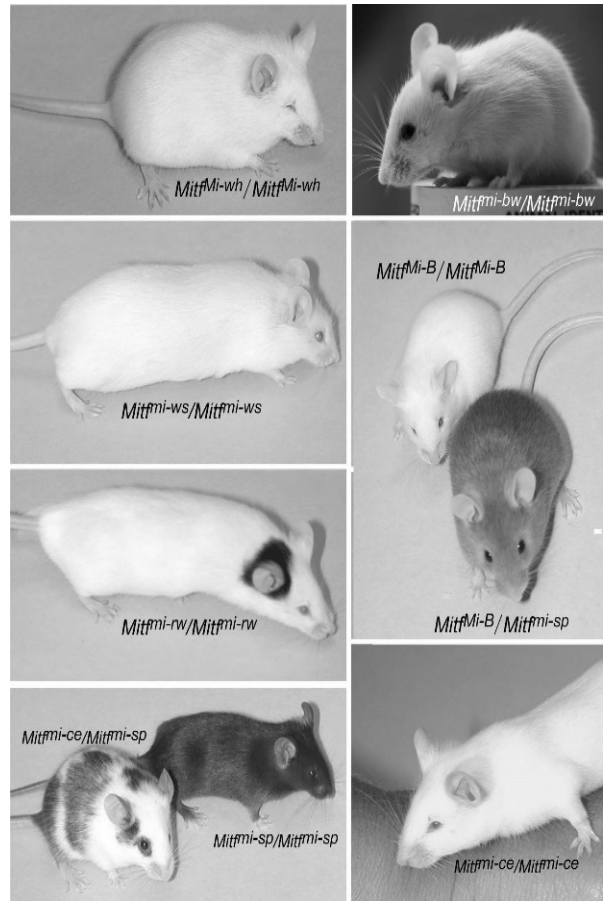


図3 *Mitf* 変異体のアレルが示す眼と毛色の変異
Mitf^{mi-bw} 変異体以外の図は Lamoreux 博士の好意による。文献 10 を一部改変。

を呈する我々の研究室特産のマウス・black-eyed white (*Mitf*^{mi-bw}/*Mitf*^{mi-bw})¹¹、斑(まだら)になって眼色も薄い個体、斑で野生型同様の眼を持つ個体、眼と毛色に関して野生型と区別がつかない個体等々、その表現型は様々であることがわかる。つまり、これらの表現型が示すところは、この遺伝子が全てのメラニン色素細胞、すなわち網膜色素上皮とメラノサイトの両方の発生に必須、すなわち遺伝学的な表現では、それらを支配している、ということである。換言すれば、哺乳動物の全てのメラニン色素細胞を発生させる情報は、いったん *Mitf* 遺伝子の発現か *Mitf* タンパク質の修飾に集まることを示していることになる。実際これまでの分子生物学的な成果はそれを支持する⁹。

Mitf は多くのアイソフォームをもち、組織特異的な発現を予想させるが、まさにその通りで、図 4¹² に示すように、それらは第 2 エクソン以下にコードされるアミノ酸配列を共通に持ちながらも、第 1 エクソンにコードされるアミノ酸配列が異なり、それぞれの第 1 エクソン上流

には特異的なプロモーター領域がある。

1980 ごろ研究室にやってきた我々の特産の黒眼白毛色マウスは、1950 年代に C3H 系統で初めて記載され¹³、竹内先生のブラウン大学の友人を経て仙台の青葉山（東北大理学部）に渡ってきた。そして彼らの子孫は今も私たちと一緒に長浜（長浜バイオ大）にいる。C57BL/6 でコンジュニック系統を作ろうと戻し交配を重ねるうちに、何度か絶滅の危機に瀕し、全個体数が 4 頭にまで減少してしまったこともあった。国内外の研究者の助言も得て、何とか回復させることができたが、あとでわかったのは、その時には米国でもすでにこの系統が絶滅していたことだった。後にアメリカのグループから分与依頼があり、勿論里帰りさせた。

この黒眼白毛色マウスは *Mitf^{mi-bw}* アレル（潜性、劣性）をホモに持ち、その結果 M アイソフォーム (*Mitf*-M) をコードする 1M エクソン（図 4）からの転写が検出できないほどに低下する。興味深いのはその変異が第 3 イントロンに L1 レトロトランスポゾンが挿入されたことによるもので¹¹、それがなぜ M アイソフォーム N 末をコードする第 1 エクソンからの転写に影響を及ぼすか、その機構が新たな問題となったが、まだ今後の課題として残されている。

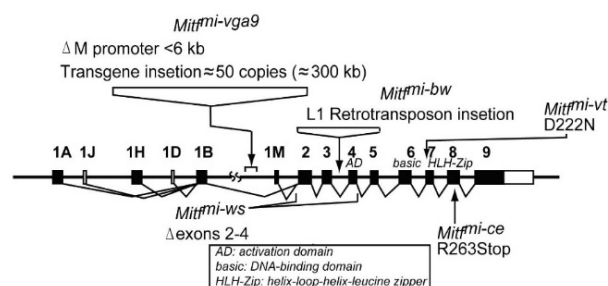


図 4 *Mitf* 遺伝子座の構造
文献 12 を一部改変。

このアレルをホモに持つ個体の胚からはほとんどメラノblastが分化しないが、培養系において、我々は当該細胞の移動時期に *Mitf* を人工的に発現させることによりレスキューできた¹⁴。すなわち、メラノサイトに関して *Mitf*-M が必要とされる発生ステージの一つがこの発生時期ということである。

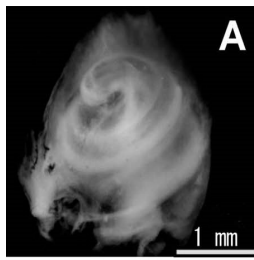
Mitf の機能については多くの解析がなされてきたが、我々も、この遺伝子がメラノフォア（脊椎動物のメラノサイトに対応）の形態にも影響を及ぼすことをアフリカツメガエルを用いて発見できた¹⁵。またニワトリ胚の眼の RPE 発生時に、*Mitf* はサイクリン依存性キナーゼインヒビター（cyclin-dependent kinase inhibitor）

である *p27^{kip1}* 遺伝子の制御領域に会合してその発現を制御し、細胞増殖を調節することなどを報告することができた¹⁶。無脊椎動物ではあるが脊索動物のマボヤも *Mitf* 遺伝子を持ち、それは彼らをもつ色素細胞の系譜で発現し、その過剰発現がチロシナーゼの異所的な発現を誘導できることなども明らかにすることができた¹⁷。すなわち *Mitf* と色素細胞を特徴づける遺伝子の関係が脊索動物に保存されていることが分かったことになる。なおマボヤ *Mitf* 遺伝子には複数の第 1 エクソンを検出することはできていない¹⁷。

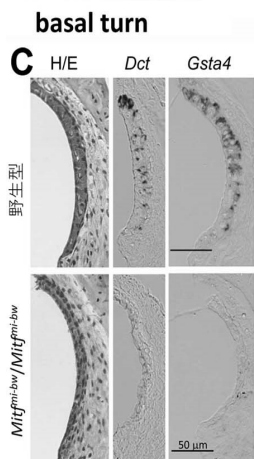
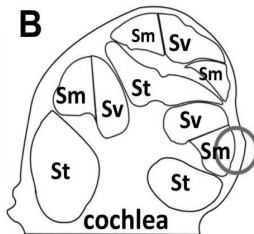
5. 皮膚以外に定着するメラノサイトの機能

メラノサイトは高い移動能をもち、神経冠（提）から這い出して体中いたるところに定着する（図 1）。場所（定着場所）によっては、露出した皮膚のように強い光を浴びず、薄暗い組織・器官の環境もある。このようなところでも彼らは特別な役割を果たしているのだろうか？ 例えば内耳蝸牛の血管条と呼ばれる脈管系に富む領域に定着したメラノサイトは、聴覚に必須であることがわかっている。その原因は、KCNJ10 (Kir4.1) potassium channel が蝸牛内電位の保持に必須であり、メラノサイトが当該タンパク質を発現していることによる、とされている¹⁸。この観察は、メラニン合成を大きな特徴とするメラノサイトが、定着場所に依存して、これまでほとんど解明されてこなかったメラニン合成とは「直接」に関係しない機能を発揮している可能性を想起させる。実際、*Mitf^{mi-bw}* ホモ接合体もメラノサイトを発生させることが出来ず聴覚を失っている¹⁹。ダーウィンの「種の起源」、第 1 章「家畜化におけるバリエーション」には、「ブルーの目をもつ猫は常に難聴：”cats with blue eyes are invariably deaf”」との記述がある²⁰。メラノサイトを欠損した白毛の個体も少なからずこの集団に含まれていたと思われる。

一方、色素細胞は分化できるものの、チロシナーゼ活性をもつ酵素をコードすることが出来ず、メラニン沈着を起こすことが出来ないアルビノ個体は、聴覚を持つ¹⁹。となると、メラノサイトの一大特徴であるメラニン合成は聴覚に無関係なのであるだろうか？ チンチラに雑音を聞かせると内耳蝸牛が真っ黒になる、との報告は、メラニンの機能を期待する著者には正直うれしいものである²¹。我々はこの蝸牛メラノサイトに glutathione S-transferase alpha 4 (*Gsta4*) の特異的でまた高い発現を見出した（図 5）²²。*Gst* は glutathione (G-SH) の生体異物への結合



A
Midmodiolar section
apical turn



野生型

Mitf^{mi-bw}/Mitf^{mi-bw}

図5 マウス蝸牛構造と血管条に発現する *Gsta4*
マウスの蝸牛を取り出すとうっすらと血管条の暗い部分がらせん状に認められる(A)。蝸牛軸断面図(B)において、Sm (Scala media、蝸牛中央階) 壁面(丸印)に形成される血管条領域には、*Dct* などメラノサイトのマーカー遺伝子に加え *Gsta4* 遺伝子の発現が特異的に認められる (C: それぞれインシツハイブリダイゼーション)。これら発現はメラノサイトが分化しない場合は検出できない。ヘマトキシリン/エオシン染色 (H/E) 像では、メラノサイトの欠損により血管条が薄くなることが観察できる (C)。

い。見方によっては、入射する光は、RPE と脈絡膜のメラノサイトが産生するメラニンによって、眼球の外側への透過が強力にブロックされているようにも思える。この構造、「何か」意義があるように思えてならないのである。

この発達した脈絡膜脈管系が眼球への養分供給や老廃物の除去に必須であることは明白であるが、加えて少数ながらこの領域の早い流

速が眼の恒温性に寄与する可能性を推察した興味深い報告がある²³。

驚いたことに、黒眼白毛色のマウスは、この脈管系がひしゃげているように観察されることに気付いた (図6)²⁴。前述の眼球恒温性維持機構における脈絡膜脈管系が果たす寄与の魅力的な推察が正しければ、その保障には脈管系を覆うメラノサイトが大きく貢献しているはずではないか、と考えるようになった。つまりこの変異体では野生型に比して血流速度が低下しているものと予想し、これを計測したいと思うようになった。しかしこれは意外と簡単ではなく、最近になってようやく共同研究者の協力の一部定量化できるようになってきたところである (Shibuya ら、未発表)。

速が眼の恒温性に寄与する可能性を推察した興味深い報告がある²³。

驚いたことに、黒眼白毛色のマウスは、この脈管系がひしゃげているように観察されることに気付いた (図6)²⁴。前述の眼球恒温性維持機構における脈絡膜脈管系が果たす寄与の魅力的な推察が正しければ、その保障には脈管系を覆うメラノサイトが大きく貢献しているはずではないか、と考えるようになった。つまりこの変異体では野生型に比して血流速度が低下しているものと予想し、これを計測したいと思うようになった。しかしこれは意外と簡単ではなく、最近になってようやく共同研究者の協力の一部定量化できるようになってきたところである (Shibuya ら、未発表)。

脈絡膜におけるメラノサイトと脈管系の共存は、蝸牛血管条での両者の位置取りを想起させる。蝸牛血管条においても上記同様の現象がみられるのではないかと予想するが、細い血管網を持つ当該領域、我々の現在の技術ではすぐに解析できる状況にはない。ぜひトライしたい課題である。読者の皆様が興味を持って解析して下さいればこの上ない喜びである。

ところで、メラノサイトは心臓の弁や中隔に定着しその色素産生の程度は毛色のそれと相関するらしい²⁵。心臓平滑筋細胞の発生過程で一部集団がメラノサイトに分化すると動脈管開存症を引き起こす、との同グループからの報告もある²⁶。また心房細動との関連を推察させる報告もある²⁷。肺ではリンパ脈管筋腫症 (Lymphangioliomyomatosis) においてメラノソーム (メラニン合成と沈着が行われるオルガネラ) を含むメラノサイト様の細胞が現れるとの報告もある^{28,29}。ヒト脂肪組織においても異所的なメラニン合成が認められている³⁰。精査すれば、おそらくまだ検出 (記載) されていないメラノサイトの定着場所が発見されることもあるであろう。これらメラノサイトはいった

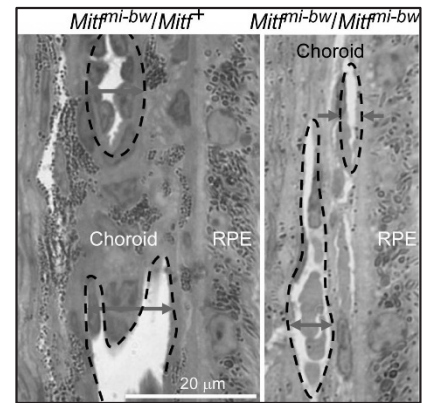


図6 脈絡膜脈管系の構造
メラノサイトを欠損する黒眼白毛色変異体の脈絡膜血管は断面がひしゃげているように(平べったくなるように)観察される。
Choroid: 脈絡膜。

いどのような機能を持っているのであろうか、大変興味深い。

最後に

さてこの黒眼の白ネズミ、天明7年（江戸時代、1787年）に銭屋長兵衛により発行された「珍翫鼠育艸」（チンガンソダテグサ）に描かれている（図7）³¹。ハツカネズミか否かは定



図7 珍翫鼠育草（チンガンソダテグサ）³¹

国立国会図書館デジタルコレクション- 珍翫鼠育草 {インターネット公開(保護期間満了)} から (部分)。

型を楽しんできたようだ。ちなみに、黒眼の白は干支のネズミの絵馬にも現れる。

さて我々の身近にいるこの黒眼の白マウス、見方を変えるたびに、様々な新しい性格を現してくれ、尽きぬ興味を与え続けてくれた。研究対象は常に福德にあふれている、ということであらうか。

謝辞

岡山実験動物研究会における今回の講演機会を下さいました竹内栄先生、国枝哲夫先生、佐藤勝紀先生にお礼申し上げます。これまで協

力下さった学部学生、大学院生を含む多くの共同研究者の皆様に心より感謝申し上げます。

- 1 庫本高志・山本博章：ネズミの毛色発現に関与する遺伝子、色素細胞（第2版）、伊藤祥輔・柴原茂樹・錦織千佳子編、慶應義塾大学出版会、東京 pp71-86 (2015).
- 2 Edelstein, L. M. *et al.* Inability of murine melanoma melanosomal "tyrosinase" (L-dopa oxidase) to oxidize tyrosine to melanin in polyacrylamide gel systems. *J Invest Dermatol* 64, 364-370 (1975).
- 3 Hearing, V. J. and Ekel, T. M. Involvement of tyrosinase in melanin formation in murine melanoma. *J Invest Dermatol* 64, 80-85 (1975).
- 4 Yamamoto, H. and Takeuchi, T. Immunoelectron microscopic localization of tyrosinase in the mouse melanocyte. *J Histochem Cytochem* 29, 953-958 (1981).
- 5 Yamamoto, H. *et al.* Cloning and sequencing of mouse tyrosinase cDNA. *Jpn J Genet* 62, 271-274 (1987).
- 6 Yamamoto, H. *et al.* Melanin production in cultured albino melanocytes transfected with mouse tyrosinase cDNA. *Jpn J Genet* 64, 121-135 (1989).
- 7 Tanaka, S. *et al.* Melanization in albino mice transformed by introducing cloned mouse tyrosinase gene. *Development* 108, 223-227 (1990).
- 8 Yamamoto, H. *et al.* Phylogeny of regulatory regions of vertebrate tyrosinase genes. *Pigment Cell Res.* 5, 284-294 (1992).
- 9 Goding, C. R. *Mitf* from neural crest to melanoma: signal transduction and transcription in the melanocyte lineage. *Genes Dev* 14, 1712-1728 (2000).
- 10 上原重之・山本博章：マウスの毛色発現機構と色素細胞の機能。「生物の科学遺伝」62 (No. 6) 7-19, エヌ・ティ・エス (2008).
- 11 Yajima, I. *et al.* An L1 element intronic insertion in the black-eyed white (*Mitf*^{mi-bw}) gene: the loss of a single *Mitf* isoform responsible for the pigmentary defect and inner ear deafness. *Hum Mol Genet* 8, 1431-1441 (1999).
- 12 上原重之・山本博章：体色遺伝学。「生物の科学遺伝」63 (No. 5) 15-28, エヌ・ティ・エス (2009).
- 13 Kreinter, P.C. Linkage studies in a new black-eyed white mutation in the house mouse (not W). *J. Hered.* 48, 300-304 (1957).
- 14 Hozumi, H. *et al.* Impaired development of melanoblasts in the black-eyed white *Mitf*^{mi-bw} mouse, a model for auditory-pigmentary

- disorders. *Genes Cells* 17, 494-508 (2012).
- 15 Kawasaki, A. *et al.* Mitf contributes to melanosome distribution and melanophore dendricity. *Pigment Cell Melanoma Res* 21, 56-62 (2008).
 - 16 Tsukiji, N. *et al.* Mitf functions as an *in ovo* regulator for cell differentiation and proliferation during development of the chick RPE. *Dev Biol* 326, 335-346 (2009).
 - 17 Yajima, I. *et al.* Cloning and functional analysis of ascidian Mitf *in vivo*: insights into the origin of vertebrate pigment cells. *Mech Dev* 120, 1489-1504 (2003).
 - 18 Marcus, D. C. *et al.* KCNJ10 (Kir4.1) potassium channel knockout abolishes endocochlear potential. *Am J Physiol Cell Physiol* 282, C403-C407 (2002).
 - 19 Motohashi, H. *et al.* Dysgenesis of melanocytes and cochlear dysfunction in mutant microphthalmia (*mi*) mice. *Hear Res* 80, 10-20 (1994).
 - 20 Darwin, C. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. (Murray J) London) (1859).
 - 21 Gratton, M. A. and Wright, C.G. Hyperpigmentation of chinchilla stria vascularis following acoustic trauma. *Pigment Cell Res* 5, 30-37 (1992).
 - 22 Uehara, S. *et al.* Specific expression of Gsta4 in mouse cochlear melanocytes: a novel role for hearing and melanocyte differentiation. *Pigment Cell Melanoma Res* 22, 111-119 (2009).
 - 23 Nickla, D. L. and Wallman, J. The multifunctional choroid. *Prog Retin Eye Res* 29, 144-168 (2010).
 - 24 Shibuya, H. *et al.* Melanocytes contribute to the vasculature of the choroid. *Genes Genet Syst* 93, 51-58 (2018).
 - 25 Yajima, I. and Larue, L. The location of heart melanocytes is specified and the level of pigmentation in the heart may correlate with coat color. *Pigment Cell Melanoma Res* 21, 471-476 (2008).
 - 26 Yajima, I. *et al.* A subpopulation of smooth muscle cells, derived from melanocyte-competent precursors, prevents patent ductus arteriosus. *PLoS One* 8(1):e53183 (2013).
 - 27 Levin, M. D. *et al.* Melanocyte-like cells in the heart and pulmonary veins contribute to atrial arrhythmia triggers. *J Clin Invest* 119, 3420-3436 (2009).
 - 28 Plonka, P. M. *et al.* What are melanocytes really doing all day long...? *Exp Dermatol* 18, 799-819 (2009).
 - 29 Ferrans, V. J. *et al.* Lymphangioliomyomatosis (LAM) A Review of Clinical and Morphological Features. *J Nippon Med Sch* 67, 311-329 (2000).
 - 30 Randhawa, M. *et al.* Evidence for the ectopic synthesis of melanin in human adipose tissue. *FASEB J* 23, 835-843 (2009).
 - 31 定延子 (テイエンシ) : 珍玩鼠育草 (チンガンソダテグサ)、出版者 錢屋長兵衛、1787 (天明 7 年) 国立国会図書館デジタルコレクション - 珍玩鼠育草 (永続的識別子 : [info:ndljp/pid/2540511](https://nndl.jp/pid/2540511); 公開範囲 (rights) インターネット公開 (保護期間満了))
 - 32 Keeler, C. E. The laboratory mouse: its origin, heredity and culture, Harvard University Press, Cambridge, USA, (1931).