

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10203

研究課題名(和文) 皮膚バリアの改善をめざす表皮バリアの3次元微細構造解析

研究課題名(英文) 3D analysis of epidermal barrier for improvement of skin barrier

研究代表者

山本 明美 (Ishida-Yamamoto, Akemi)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：30241441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々は過去にfocused ion beam 走査電子顕微鏡法により超微細構造画像の3次元構造を再構成することによって、表皮顆粒層の層板顆粒(LG)の分泌が顆粒細胞の表面上で不均一に起きることを発見した。

本研究では、上記の方法よりもより広い領域を繰り返し視覚化できる連続切片表面走査電子顕微鏡法によってLG分泌システムを調べた。その結果、LG分泌はより成熟したSG1細胞表面に接する面から始まることが確認でき、顆粒細胞が上に面する細胞の成熟状態を感知できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超微細構造画像の3次元(3D)再構成の新しい技術には、集束イオンビームによるセクションングアプローチを使用した集束イオンビーム走査型電子顕微鏡(FIB-SEM)や連続切片表面SEMがあるが、医学・生物学領域では超微細構造の3D再構築をもちいた研究成果の発表はまだ少ない。本研究では連続切片表面SEMを用いることにより、FIB-SEMよりも広い視野で細胞間の位置関係を繰り返し確認しながら、微細構造レベルで起きている細胞の変化を観察できることが示された。この方法は、他の細胞や組織でも応用できる手法であることから、この研究成果の学術的意義は高いと考えている。

研究成果の概要(英文)：We have previously examined the distribution of epidermal lamellar granules (LG) by three-dimensional reconstruction of ultrastructural images using focused ion beam scanning electron microscopy (FIB-SEM), and found that LG-fusion with the plasma membrane was observed unevenly from the granular cell surface. In the present study, we examined the LG secretion system by serial section surface SEM, which visualized more expansive areas of the epidermis than FIB-SEM, and found that LGs were secreted first from the surface area of the cells under the more matured cells. This finding suggests that the granular cells can sense the maturation status of the cells facing above and start LG-secretion to the area facing the more matured granular cells.

研究分野：皮膚科学

キーワード：keratinocytes electron microscopy lamellar granules 3次元再構築 focused ion beam 連続切片走査電子顕微鏡法

1. 研究開始当初の背景

超微細構造画像の3次元(3D)再構成の技術は近年大幅に進歩した。まず、イメージングチャンバー内に超薄切片マイクロトームを備えた走査型電子顕微鏡を使用する3Dイメージング技術が開発された。次いで、集束イオンビームによるセクションングアプローチを使用した集束イオンビーム走査型電子顕微鏡(FIB-SEM)が開発された。その後、皮膚切片のより広い領域を繰り返し視覚化できる連続切片表面SEMが開発された。しかし皮膚科領域、皮膚の生物化学領域での3D再構成技術関連の研究報告はごく少数に限られている。

過去に我々がFIB-SEMを使用して顆粒層(LG)の分布を調べたところ、最表層の顆粒層の細胞(SG1)に面する2番目の層の顆粒層細胞(SG2)で、細胞膜とLG融合が細胞表面の一部に限定的に観察された。

2. 研究の目的

本研究では、上述の観察結果の意義を明らかにするため、FIB-SEMよりも表皮のより広い領域を視覚化できる連続切片表面SEM(図1)によってヒト表皮のLG分泌システムを調べた。

3. 研究の方法

ヒト正常皮膚の電子顕微鏡用に処理しエポキシ樹脂に包埋したものから、300枚の連続切片をスライドガラス状にマウントし、超高分解能電界放出型走査顕微鏡の反射電子

モードを用いて、連続切片表面SEMを行った。

4. 研究成果

LGが最初にSG2細胞の表面の、より成熟したSG1細胞表面に接する面から分泌されることが確認できた(図2-4)。この発見は、顆粒細胞が、より成熟した顆粒細胞に面する領域へのLG分泌を開始する際に、上に面する細胞の成熟状態を感知できることを示唆している。

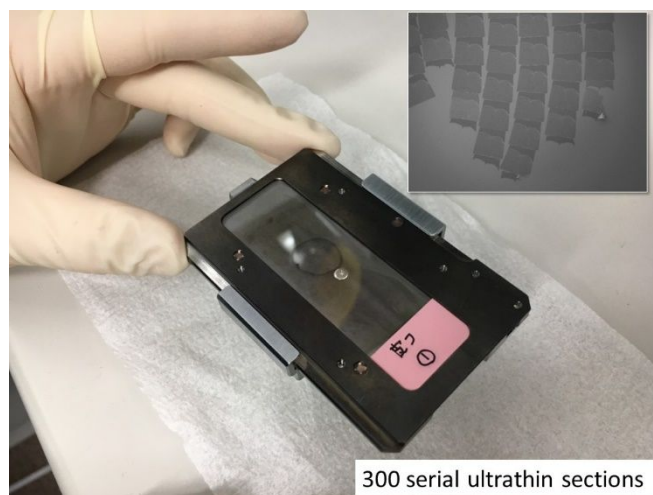


図1：300枚の連続切片を乗せたスライドガラス。

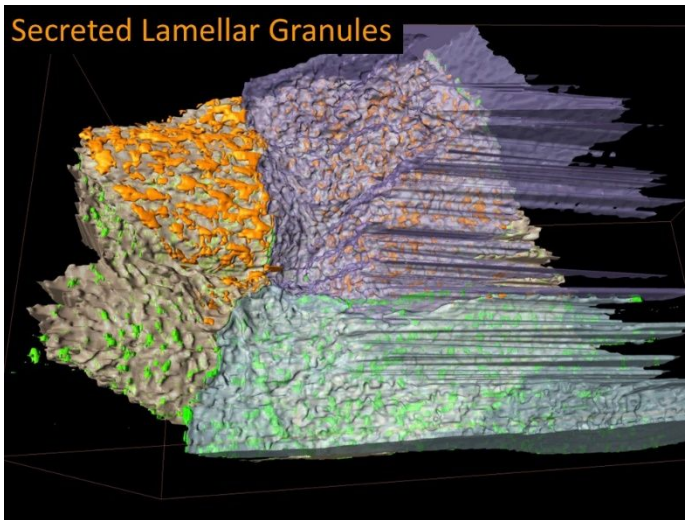


図2：表皮顆粒層の3個の細胞を上から見たところ。オレンジ色が細胞の表面に分泌された層板顆粒を表している。(緑色はタイトジャンクション構造)

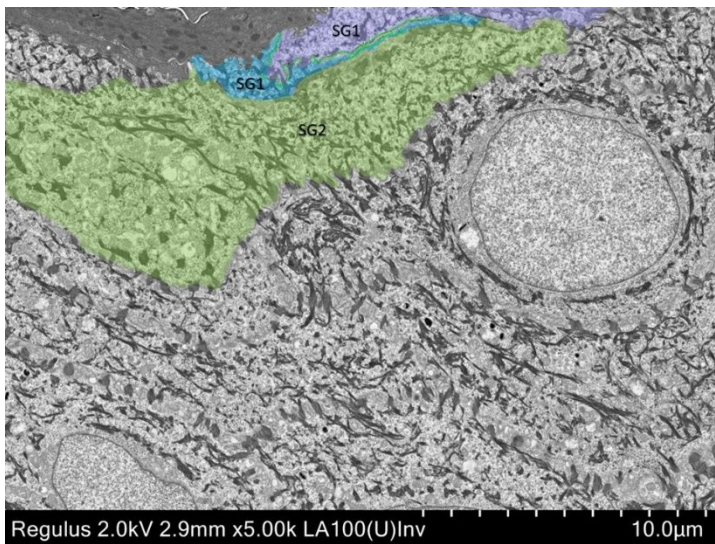


図3：図2で示された領域のある一断面に相当する2次元の電子顕微鏡画像。SG2と表示されている黄緑色の細胞の上に2つのSG1細胞が接しているが、青紫の細胞の方が青色の細胞の上位に位置していることが分かる。

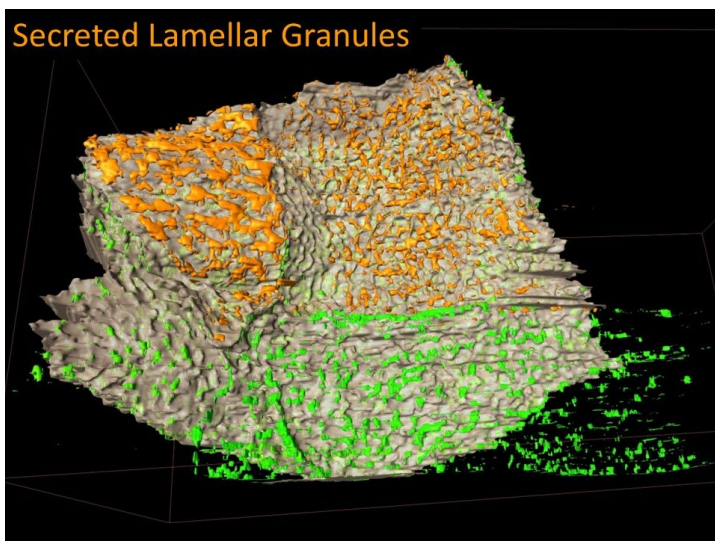


図4：図2で示されていた3つの細胞のうち、表層に近い2つの細胞を取り除いた状態を表す3次元再構築画像。図3の青紫色で示す細胞の下面に接している部分には層板顆粒(オレンジ色)が分泌されているが、青色の細胞の下面には分泌されていないことを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sasaki K, Iinuma S, Tsuruta N, Kanno K, Kishibe M, Honma M, Ishida-Yamamoto A	4. 巻 30
2. 論文標題 Dermoscopy of Bier spots.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol	6. 最初と最後の頁 300-301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2020.3789.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kishibe M, Igawa S, Kanno K, Matsuo R, Ishida-Yamamoto A.	4. 巻 48
2. 論文標題 Inclusion bodies are not uncommon in angioleiomyoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cutan Pathol	6. 最初と最後の頁 269-273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cup.13891	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawakami T, Akiyama M, Ishida-Yamamoto A, Nakano H, Mitoma C, Yoneda K, Suga Y.	4. 巻 47
2. 論文標題 Clinical practice guide for the treatment of perforating dermatosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1374-1382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15647.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujii M, Kishibe M, Honma M, Anan T, Ishida-Yamamoto A.	4. 巻 42
2. 論文標題 Aluminum Chloride-Induced Apoptosis Leads to Keratinization Arrest and Granular Parakeratosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Dermatopathol.	6. 最初と最後の頁 756-761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/DAD.0000000000001513.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii M, Kishibe M, Ishida-Yamamoto A.	4. 巻 48
2. 論文標題 Case of hypocomplementemic urticarial vasculitis with Sjogren's syndrome successfully treated with oral corticosteroid and colchicine.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 e112-113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15712.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa M, Shimizu A, Ieta K, Shibusawa K, Ishikawa O, Ishida-Yamamoto A, Tamura A.	4. 巻 47
2. 論文標題 Generalized lentiginos associated with familial gastrointestinal stromal tumors dramatically improved by imatinib treatment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 e241-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15321.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanishi H, Soma T, Kishimoto J, Hibino T, Ishida-Yamamoto A	4. 巻 139
2. 論文標題 Marked Changes in Lamellar Granule and Trans-Golgi Network Structure Occur during Epidermal Keratinocyte Differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 352-359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2018.07.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanishi H, Soma T, Kishimoto J, Hibino T, Ishida-Yamamoto A	4. 巻 139
2. 論文標題 Marked Changes in Lamellar Granule and Trans-Golgi Network Structure Occur during Epidermal Keratinocyte Differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 352-359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2018.07.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishida-Yamamoto A, Igawa S, Kishibe M, Honma M	4. 巻 45
2. 論文標題 Clinical and molecular implications of structural changes to desmosomes and corneodesmosomes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 385-389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14202.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishida-Yamamoto A	4. 巻 27
2. 論文標題 Molecular basis of the skin barrier structures revealed by electron microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 841-846
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.13674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 山本明美、岸部麻里、本間大	4. 巻 1
2. 論文標題 遺伝性皮膚バリア障害からみえてきたアレルギー発症における皮膚バリアの重要性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本皮膚免疫アレルギー学会雑誌	6. 最初と最後の頁 7-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山本明美、岸部麻里、本間大	4. 巻 60
2. 論文標題 遺伝性の表皮の疾患からみえてきたアトピー発症における皮膚バリアの重要性	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 皮膚病診療	6. 最初と最後の頁 818-823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Akemi Ishida-Yamamoto, Yusuke Nagasawa, Haruyo Yamanishi, Mari Kishibe, Atsushi Miyaki, Satoshi Kusumi, Tsuyoshi Watanabe, Daisuke Koga
2. 発表標題 Three-dimensional imaging of tight junction-network across multiple layers of human epidermis by array tomography using backscattered electron-mode scanning electron microscopy
3. 学会等名 The 77th annual meeting of society for investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akemi Ishida-Yamamoto
2. 発表標題 Molecular Basis of the Skin Barrier Structures Revealed by Electron Microscopy in Health and Disease
3. 学会等名 Barrier Function of Mammalian Skin, Gordon Research Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Nagasawa, Satomi Igawa, Haruyo Yamanishi, Satoshi Kusumi, Tsuyoshi Watanabe, Daisuke Koga, Akemi Ishida-Yamamoto
2. 発表標題 Three-dimensional electron microscopy imaging revealed extended tight junction structures across multiple layers of the stratum granulosum
3. 学会等名 The 44th annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akemi Ishida-Yamamoto, Yusuke Nagasawa, Haruyo Yamanishi, Mari Kishibe, Atsushi Miyaki, Satoshi Kusumi, Tsuyoshi Watanabe, Daisuke Koga
2. 発表標題 Three-dimensional imaging of tight junction-network across multiple layers of human epidermis by array tomography using backscattered electron-mode scanning electron microscopy
3. 学会等名 The 77th annual meeting of society for investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mari Kishibe, Satomi Igawa, Akemi Ishida-Yamamoto
2. 発表標題 Incomplete secretion of KLK7 and upregulated LEKTI are related to hyperkeratotic stratum corneum in atopic dermatitis
3. 学会等名 8TH PAN-PACIFIC SKIN BARRIER SYMPOSIUM (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Haruyo Yamanishi, Trutomu Soma, Akemi Ishida-Yamamoto, Toshihiro Hibino
2. 発表標題 Three dimensional ultrastructural analysis of lamellar granule in stratum granulosum by focused ion beam scanning electron microscopy
3. 学会等名 8TH PAN-PACIFIC SKIN BARRIER SYMPOSIUM (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Haruyo Yamanishi, Trutomu Soma, Akemi Ishida-Yamamoto, Toshihiro Hibino
2. 発表標題 Three dimensional ultrastructural analysis of lamellar granule in stratum granulosum by focused ion beam scanning electron microscopy
3. 学会等名 76th annual meeting of society for investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

旭川医科大学皮膚科学講座 業績 http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/dermat/research/gyouseki2017.html 旭川医科大学 研究者総覧 研究者詳細 http://hyouka04.asahikawa-med.ac.jp/html/100000085_ja.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村上 正基 (Murakami Masamoto) (20278302)	愛媛大学・医学部附属病院・講師 (16301)	
研究分担者	岸部 麻里 (Kishibe Mari) (90431410)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	
研究分担者	齋藤 奈央 (Saito Nao) (90736670)	旭川医科大学・医学部・研究生 (10107)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関