

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 4 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16337

研究課題名（和文）ヒト汗腺の発汗収縮メカニズムの解明-可視化法の改良とそれを用いた動態解析-

研究課題名（英文）Elucidation of the contraction mechanisms of human sweat gland in sweating - Improvement the visualization of live sweat gland and Analysis by using visualization system-

研究代表者

中島 輝恵 (Nakashima, Kie)

大阪大学・薬学研究科・特任研究員（常勤）

研究者番号：60768670

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：生体染色法によりヒト汗腺の可視化に成功し、共焦点顕微鏡で標識したヒト汗腺のコイル構造を経時観察から、以下のことを見出した。ヒト汗腺コイル構造部位はアセチルコリン刺激により収縮を引き起こす。コイル構造部位を構成する分泌管がアセチルコリン刺激により収縮したのち、遅れて導管部分が拡張した。さらに発汗阻害剤であるアトロピン前処理により、遅く収縮は阻害された。以上の結果から、汗腺は発汗時収縮することで汗を押し出していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進化の過程において、体温上昇を防ぐためのヒト特有のツールとして汗腺を有し発汗機能を手に入れた。そのため汗腺は進化的に未熟な器官であり、生活環境において発汗機能は変化しやすく温暖化による熱中症や、ストレスにより発汗障害が起こり多汗によるQOLの低下などを引き起こす。発汗異常の原因究明、また治療法の確立を目指し、汗腺の発汗機構を解明する。今回、汗腺の発汗時の動きの観察法を確立し、その動きを明らかにした。汗腺は汗を生成して排出するだけでなく、自ら収縮することによって効率よく汗を分泌していることが示唆された。これら知見の積み重ねが、汗腺の機能障害の改善、熱中症の治療法確立につながる。

研究成果の概要（英文）：We established the visualizing and 3D live imaging system for human sweat gland. Using this 3D live imaging system, we found that i) the coiled structure of sweat gland was contracted by cholinergic stimulation; ii) secretory duct contracted just after adding acetylcholine analogue, while excretory duct expanded belatedly; iii) well-known sweating antagonist atropine inhibited the acetylcholine-induced contraction. These result suggested that sweat gland contracted for expressing sweat onto skin surface.

研究分野：イメージング

キーワード：汗腺 ライブイメージング 発汗 収縮機構 3次元構造

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

ヒト汗腺は、進化の過程において独自に獲得した体温の恒常性維持に働く唯一の冷却装置である。この冷却装置である汗腺が分泌異常を起こすと、QOLの低下や熱中症などの重篤な症状を引き起こす危険性がある。そこで、汗腺器官の分泌機能の改善を目的として発汗メカニズムの動態解明に焦点を当てて研究を開始した。汗腺は皮膚表面の開口部から真皮層にむかって導管をまっすぐ下に伸ばし、分泌管につながる。真皮層において、一部の導管と分泌管が複雑に折りたたまれたコイル構造を形成している。これまでの発汗研究では、実際に皮膚表面に放出された汗の量を測定するか、光干渉法による皮膚表面から約0.5mm程度の深さまでの観察など汗そのものの研究が主体であり、汗腺本体の動きは、全く明らかになっていなかった。さらに、分泌管を取り囲んでいる筋上皮細胞が収縮することによって発汗するだろうと考えられているが、分泌部での汗成分の産生機構や、筋上皮細胞の収縮による排出機構の詳細も明らかではない。そこで、汗そのものではなく汗を分泌するときの汗腺器官の動きを明らかにするために汗腺の3次元経時観察法の確立と最適化を試みた。

### 2. 研究の目的

本研究では、生体染色法を用いて汗腺器官の3次元構造を保存したままの状態での発汗時の動態機構を解明する。発汗時の動態機構の解明は汗腺の分泌機能の改善につながる。

### 3. 研究の方法

新鮮なヒト皮膚組織（倫理審査承認済み）から色素（Neutral Red）で標識した汗腺のコイル部位を実体顕微鏡下で採取し、固定することなくそのまま生体染色法を用いて汗腺の細胞の染色を行った。共焦点顕微鏡を用いて、染色した汗腺を経時観察した（図1）。

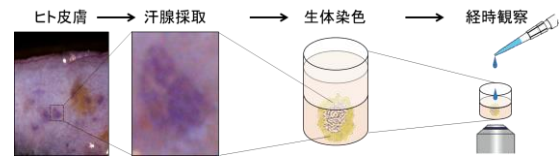


図1 汗腺の経時観察法

### 4. 研究成果

#### (1) 汗腺の生体染色法の確立

汗腺コイル構造の動態を観察するために、汗腺コイル構造を保存したまま固定せずに汗腺構成細胞の標識法を確立した。汗腺の構成細胞の細胞骨格、核、細胞膜をそれぞれ生体染色法により染色することで、生きた状態での汗腺の可視化を行った。細胞の基礎骨格の一つであるアクチン骨格をファロイジンで染色したところ、分泌管と導管を構造から識別することが可能であった（図2）。導管部分では敷石状に細胞骨格がみられ、分泌管部分においては紡錘体状の細胞が管表面を覆っていることが確認できた。分泌管の紡錘体状の細胞はこれまで報告されている筋上皮細胞であることを確認するため、筋上皮細胞マーカーである抗 $\alpha$ SMA抗体を用いて免疫組織化学染色を行った（図3）。その結果、紡錘体状細胞において $\alpha$ SMA陽性であることから筋上皮細胞であることが示された。

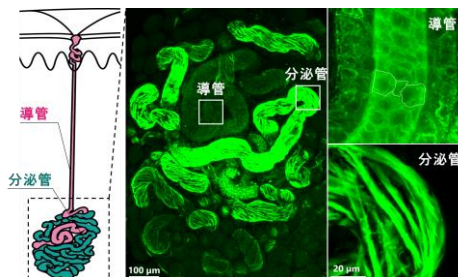


図2 汗腺コイル構造部のアクチン骨格染色象

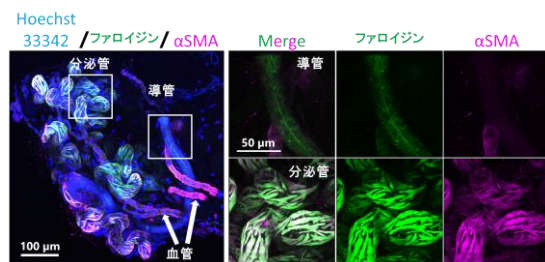


図3 汗腺コイル構造における分泌管と導管の細胞形態の違い

#### (2) 汗腺の動態観察法の確立

発汗時の汗腺コイル構造部位の動態を明らかにするため、生体染色法により標識した汗腺を、共焦点顕微鏡を用いて経時観察を行った。発汗時の神経伝達を模倣するため、観察時アセチルコリン添加による収縮誘導を行った。その結果、アクチン骨格、細胞膜、核それぞれを標識した汗腺において収縮を観察することに成功した。（図4）これにより、生体染色法と共焦点顕微鏡による経時観察の組み合わせは汗腺コイル構造部分の動態情報を理解するために有用であることが示された。

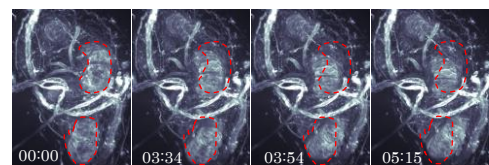


図4 汗腺コイル構造の経時観察で得られた収縮象

### (3) 汗腺の収縮機構の解析

次に、汗腺コイル構造部位の発汗への影響を理解するため、4次元で得られた動態観察データをより詳細に解析した。汗腺の動きを解析するために、汗腺内部の体積変化を用いることにした。研究成果①で述べたように、導管部分と分泌管部分は細胞形態の違いによって識別することが可能である。分泌管部分はアセチルコリン刺激後まもなく収縮しているのに対し、導管部分は遅れて拡張していた(図5)。これは、分泌管部分の収縮によって汗が押し出されていることを示唆し、さらにアセチルコリンによる刺激によって汗の生成も行われていることが予想される。これらの結果から、汗腺コイル構造部位に存在する筋上皮細胞が収縮することにより、汗腺分泌部位を収縮させ汗をおし運んでいることで発汗を支えていることが示唆された。

### (4) 汗腺の収縮を抑制

さらに、これまでに見られた汗腺コイル構造の収縮は、これまで知られている発汗抑制薬であるアセチルコリン受容体ブロッカーアトロピンの添加によって、抑制されることを確認した。このことから、汗腺コイル構造の収縮は発汗に影響があることが容易に考えられる。

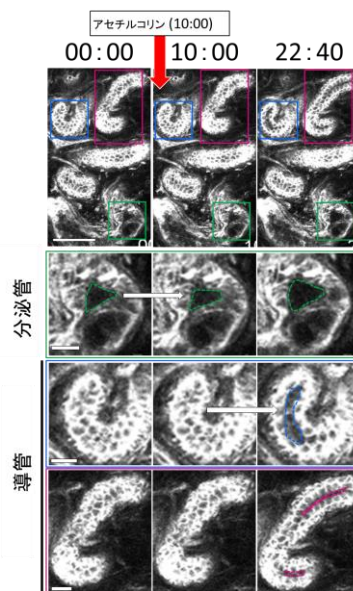


図5 汗腺コイル構造における分泌管と導管の動態解析

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

**Kie Nakashima**, Ryuichiro Kurata, Fumitaka Fujita, Fumihiko Okada, Atsushi Tanemura, Hiroyuki Murota, Ichiro Katayama, Kiyotoshi Sekiguchi

“Are you satisfied with your antiperspirant? High resolution 3D live imaging of human sweat glands for development of a novel antiperspirant that directly inhibits gland contraction and suppresses sweat secretion” (Oral presentation)

30th IFSCC Congress, 18th -21st, Sep. 2018, Munich, Germany

**中島輝恵**、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕、種村篤、室田浩之、片山一郎、関口清俊  
次世代制汗剤開発に向けた汗腺の高解像度3次元ライブ観察法を用いた制汗評価法  
IFSCC2018 ミュンヘン大会国内報告会(招待講演) 2018年12月20日 東京

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 制汗剤

発明者: **中島輝恵**、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2018-062833

出願年: 2018年3月28日

国内外の別: 国外

○取得状況 (計1件)

名称: 汗腺の動態の観察法

発明者: **中島輝恵**、倉田隆一郎、藤田郁尚、関口清俊、種村篤、室田浩之、片山一郎

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許第 6276487 号

取得年: 2018年1月19日

国内外の別: 国外

[その他]

(1) 受賞

大阪大学大学院薬学研究科薬友会賞研究部門賞受賞

ヒト汗腺の高解像度 3次元ライブ観察法の確立および発汗収縮動態の解明

中島輝恵

[http://www.phs.osaka-u.ac.jp/dat/news/1553662754\\_1.pdf](http://www.phs.osaka-u.ac.jp/dat/news/1553662754_1.pdf)

(2) ニュースリリース

体温調整を担うヒト汗腺において、発汗収縮の可視化と数値化により、評価法の確立に成功 マ  
ンダム

<https://www.mandom.co.jp/release/pdf/2018091801.pdf>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：関口清俊

ローマ字氏名：SEKIGUCHI Kiyotoshi

研究協力者氏名：室田浩之

ローマ字氏名：MUROTA Hiroyuki

研究協力者氏名：種村篤

ローマ字氏名：TANAMURA Atsushi

研究協力者氏名：倉田隆一郎

ローマ字氏名：KURATA Ryuichiro

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。