

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17771

研究課題名（和文）汗腺組織内の汗そのものの可視化による、ヒトにおける汗運搬メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of sweat transport mechanisms in human by visualization of sweat itself in sweat gland

研究代表者

中島 輝恵（Nakashima, Kie）

大阪大学・薬学研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：60768670

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：発汗はヒト特異的な体温冷却機構である。発汗器官である汗腺の汗運搬機構を明らかにするために、ライブ観察法と汗そのものの可視化法を組み合わせ汗腺内にある汗そのものの可視化法を検討した。1年目は、汗を間接的に可視化することを目的とし、汗腺の管内部にビーズを挿入し、ビーズの動きから汗の動きを検出する間接標識法の確立を試みた。2年目は、挿入ビーズの量、挿入部位等の検討課題を解決するためビーズによる汗の動態観察法の実験を引き続きを行った。3年目はex vivoカルシウムイメージングを行うことでアセチルコリン刺激がどのように汗腺組織を伝播し、筋上皮細胞の収縮が管全体の動きとして引き起こされるのか検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発汗障害は、ストレス社会、空調設備の進歩、高齢化などさまざまな要因から年々増加傾向にある。汗をかきすぎる多汗症や汗をかけない無汗症どちらへの障害もストレスを引き起こす。無汗症はさらに熱中症など命に関わる危険性がある。発汗障害の治療法は汗腺そのものにアプローチしたものがなく、周囲の神経または皮膚表面の汗腺の出口にアプローチしたものがほとんどだった。本研究は汗腺そのものの動きに着目しているため、学術的にも社会的にも革新的なアプローチである。さらに、発汗メカニズムの解明は先述した疾患の治療法や予防策への貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Sweating is a human-specific body temperature cooling mechanism. To clarify the sweat transport mechanism in sweat glands, which are the organs of sweating, I investigated a visualization method of sweat itself in sweat glands by combining a live observation method and a visualization method of sweat itself.

In the first year, I attempted to establish an indirect labeling method to detect the movement of sweat by inserting beads inside the ducts of sweat glands for the purpose of indirect visualization of sweat. In the second year, I continued experiments on the observation of sweat dynamics using beads in order to resolve issues such as the amount of beads to be inserted and the insertion site. In the third year, I examined how acetylcholine stimulation propagates through sweat gland tissue and causes contraction of myoepithelial cells as the movement of the entire duct by ex vivo calcium imaging.

研究分野：発汗学、細胞生物学

キーワード：発汗 汗腺 ライブイメージング ヒト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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。申請者はこれまでの研究で発汗研究には、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。そこで、申請者は、汗腺の3次元コイル構造を保ったままのライブ観察法を確立し、筋上皮細胞の収縮が汗を押し出していることを示唆する形態学的な予備結果を得た。

そこで、この汗腺器官の動きによって汗そのものがどのように分泌されるのか、明らかにするために汗腺の3次元経時観察法を改良し蛍光指示薬と蛍光ビーズを用いて汗の成分と流動を可視化し3次元ライブ観察をおこなうことで、汗腺収縮時の汗の運搬動態の解明を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、複雑なコイル構造をした皮膚付属器官である汗腺内部において汗を運搬する機構について解明する。発汗時の汗運搬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)から生体色素(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。さらに、汗を間接的に検出するために、マイクロマニピュレータを使用して蛍光ビーズを汗腺の管内腔に導入する。汗腺および蛍光ビーズの動態を観察するため、ガラスボトムディッシュに汗腺を静置し観察中生理食塩水中を浮遊しないようにコラーゲンで包埋し位置的固定した。その後、乾燥を防ぐために生理食塩水で満たし共焦点顕微鏡を用いて汗腺の動態観察をした(図1)。

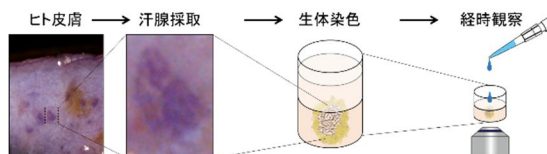
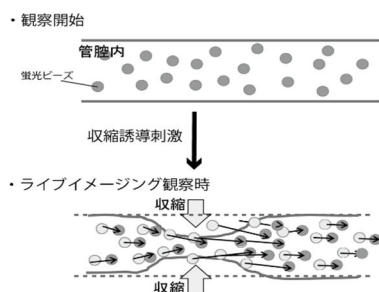


図1 汗腺の経時観察法

4. 研究成果

(1) 間接的に汗の動きを可視化する方法の確立

複雑な構造をした汗腺の中に蛍光ビーズを挿入することで、そのビーズの動きから汗自体の流速や距離を検出できると想定される(図2)。そのために、汗腺のコイル構造を維持したままの状態では汗腺管内腔に蛍光ビーズを導入することで間接的に汗を標識する方法を確立した。細胞骨格であるF-actinを染色した汗腺を生体色素であるNeutral redで染色し、マイクロマニピュレータを使用し、蛍光ビーズを充填したガラスキャピラリーで汗腺の管に穿孔する。そのままゆっくりとガラスビーズを内腔に挿入する(図3)。この方法を用いることで、汗腺の収縮に合わせ、蛍光ビーズの動きをトレースし、汗そのものの動きを検出できる。これにより、生体染色法と蛍光ビーズ挿入法を共焦点顕微鏡下で観察することは汗そのものの運搬と汗腺の動きの関係を理解するために有用であることが示された。



汗の動きが蛍光ビーズの移動に反映される

図2 蛍光ビーズ挿入による汗そのものの検出スキーム

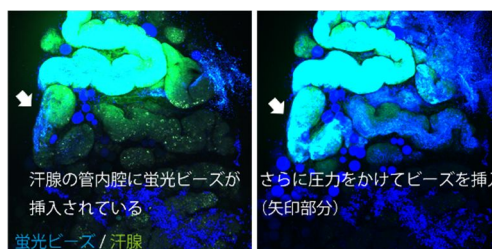


図3 汗腺に挿入された蛍光ビーズ

(2) 汗腺の収縮反応の起点をとらえた

しかし、蛍光ビーズ導入法による、汗そのものの検出にはまだまだ課題があり、多くのデータをとるのは難易度が高かった。そのため、汗腺の収縮反応がどのように起こるのか、汗腺の構造を保ったまま生体外汗腺カルシウムイメージングを行った。汗腺をカルシウムインジケータで染色することで、その後、これまで同様に共焦点顕微鏡を用いて、蛍光観察を行った。カルシウムインジケータの導入には汗腺の個体差が見られた。しかし、導入された汗腺の分泌部に着目し、発汗刺激となるアセチルコリンの類似物ピロカルピンを添加したところ、直線的に伝播するパターンとカルシウム流入がはじめにおこる細胞近傍において旋回を繰り返すパターンが確認できた（図4）。これは、これまでに観察している分泌管部位における、汗運搬のために効率よく、収縮が一斉におこらず、順次収縮を伝播させるために、異なる動きをすることに寄与している可能性があるのではないかと考えている。

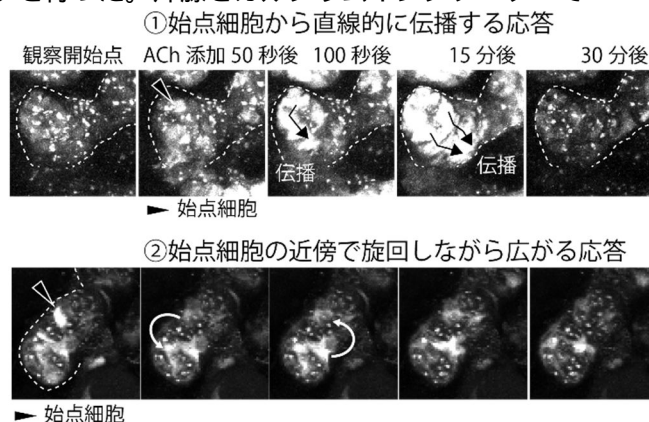


図4 汗腺コイル構造をたもったままのカルシウムイメージング

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kie Nakashima, Ryuichiro Kurata, Fumitaka Fujita, Fumihiro Okada, Atushi Tanemura, Hiroyuki Murota, Ichiro Katayama, Kiyotoshi Sekiguchi
2. 発表標題 “Contraction of myoepithelial cells in human sweat gland, revealed by 3D live imaging” (ePoster)
3. 学会等名 77th SID annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kie Nakashima, Ryuichiro Kurata, Fumitaka Fujita, Fumihiro Okada, Atushi Tanemura, Hiroyuki Murota, Ichiro Katayama, Kiyotoshi Sekiguchi
2. 発表標題 Next-Generation Antiperspirant-New concept of suppressing sweat without plugging
3. 学会等名 4th Cosmetic Victories-Finalist audition- (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 次世代制汗剤-汗を抑えるための新しい概念-
3. 学会等名 ジャパンコスメティック会員交流プレゼン大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 次世代制汗剤開発に向けたヒト汗腺の3次元動態観察とその応用
3. 学会等名 第61回 関西油化学講習会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1．発表者名 游優、中島輝恵、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕
2．発表標題 ヒトアポクリン汗腺の三次元的構造解析とアポクリン分泌の動態観察
3．学会等名 第27回日本発汗学会
4．発表年 2019年

1．発表者名 島輝恵、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕、種村篤、室田浩之、関口清俊
2．発表標題 ギャップ結合を介した筋上皮細胞収縮によるヒトエクリン汗腺の分節収縮は汗の運搬を引き起こす
3．学会等名 第29回日本発汗学会総会
4．発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1．著者名 協力 岡田文裕 / 倉田隆一郎 / 中島輝恵 執筆 山田久美	4．発行年 2019年
2．出版社 ニュートンプレス	5．総ページ数 2
3．書名 カンタン! 役立つ! ゼロからの三角関数 「身近な"?"の科学 制汗剤」	

〔出願〕 計4件

産業財産権の名称 汗腺の識別法、および汗腺の識別キット	発明者 中島輝恵、游優、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-100595	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 アポクリン汗腺の動態観察法、および被験物質の評価法	発明者 中島輝恵、游優、倉田隆一郎、藤田郁尚、岡田文裕	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-100596	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 制汗剤組成物	発明者 久加亜由美、中島輝恵、倉田隆一郎、藤田郁尚、原武史	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-170774	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 制汗剤組成物	発明者 久加亜由美、中島輝 恵、倉田隆一郎、藤 田郁尚、原武史	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-170775	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 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 同左
産業財産権の種類、番号 特許、6976672	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 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 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2321738	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

<p>(1) 受賞 The fourth edition, The Cosmetic Victories 2019, The Academic Prize New generation of anti-perspirants Kie NAKASHIMA https://www.thecosmeticvictories.com/gallery/award-ceremony-8.html https://prtimes.jp/a/?c=6496&r=478&f=d6496-478-pdf-0.pdf</p> <p>(2)取材協力 1.テレビ取材協力 テレビ大阪「やさしいニュース」 2019年7月31日放送分 内容： 番組内の経済特集として、「手に汗握る制汗剤市場の戦い」が放送されました。その中で、申請者が6月にフランスの「Cosmetic Victories2019」で最優秀賞を受賞した「次世代制汗剤への新しいコンセプトの提案」について取材を受けました。 2.科学雑誌取材協力 ニュートン2019年10月号 身近な「？」の科学「制汗剤」（執筆：山田久美） https://www.newtonpress.co.jp/newton/back/bk_2019/bk_201910.html 3.テレビ取材協力 NHK「ガッテン！」および「NHKスペシャル」 放送日：「ガッテン！」2021年12月8日放送、12月15日再放送 汗腺研究の最前線を紹介する番組において、汗腺のダイナミックな動きについて情報提供に協力しました。動画および研究成果の説明をしました。 https://www.nhk.or.jp/gatten/articles/20211208/gatten.html</p>		
--	--	--

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------