

令和6年1月30日
愛媛大学

マウス発汗の三次元ライブイメージングに成功 ～汗関連疾患の病態解明に期待～

愛媛大学大学院医学系研究科皮膚科学講座の八束和樹助教と村上正基特任教授、分子病態医学講座の川上良介准教授、今村健志教授および高知大学複合領域科学部門の仁子陽輔准教授らの研究グループは、生きたマウスの指において、発汗現象をリアルタイム・三次元観察することに成功し、その研究成果を世界で初めて発表し、令和6年1月3日に学術誌「Scientific Reports」に公表されました。

本研究グループは、全身麻酔下の生きたマウスに新たに開発した蛍光色素カクテルを経静脈的に投与し、二光子励起顕微鏡を用いて指の皮膚における発汗動態を三次元的に可視化することに成功しました。汗が関連する皮膚疾患には様々な疾患がありますが、本研究では表皮内で汗が漏出することで発症すると推測されている掌蹠膿疱症に着目し、本手法およびレーザーアブレーションを用いてマウスの表皮内汗管を局所的に破壊し、表皮内で汗の漏出を再現することに世界で初めて成功しました。この汗の漏出により表皮内水泡が出現することを確認し、掌蹠膿疱症の発症機序をさらに支持する結果を得ました。

今後は、本研究手法を用いて様々な汗関連疾患の病態解明および創薬に結びつく研究が進展することが期待されます。

つきましては、是非、取材くださいますようお願いいたします。

記

掲載誌：Scientific Reports

DOI：10.1038/s41598-023-50875-x

題名：A fluorescence imaging technique suggests that sweat leakage in the epidermis contributes to the pathomechanism of palmoplantar pustulosis

著者：Kazuki Yatsuzuka, Ryosuke Kawakami, Yosuke Niko, Teruko Tsuda, Kenji Kameda, Nobushige Kohri, Satoshi Yoshida, Ken Shiraishi, Jun Muto, Hideki Mori, Yasuhiro Fujisawa, Takeshi Imamura, Masamoto Murakami

責任著者：八束 和樹・村上 正基(愛媛大学)

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学大学院医学系研究科
皮膚科学講座 助教 八束和樹
特任教授 村上正基

電話:089-960-5350

Mail:yatsuzuka.kazuki.ya@ehime-u.ac.jp
mamuraka@gmail.com

※送付資料4枚(本紙を含む)

【背景】

私たちの体において、汗は体温調節、皮膚の保湿、アレルゲンの不活化など、実にさまざまな生理学的機能を有していますが、この発汗システムが異常を来すと汗疹(あせも)をはじめとする種々の疾患を引き起こすことが知られています。これまでに発汗に関する機能解析は多数の研究者らによってなされてきましたが、その多くが動物あるいはヒトの体外に取り出した汗または汗腺組織を用いた研究であり、本来存在する体内での生理的な発汗動態を可視化し、詳細に解析する研究は進んでいませんでした。今回我々は、マウスの指にも人間とほぼ同様の汗腺組織が豊富に存在することに着目し、マウスを用いてこの「発汗の可視化」に挑戦しました。さらに、汗関連疾患の一つとして慢性炎症性皮膚疾患である掌蹠膿疱症を取り上げ、未だ明らかにされていない掌蹠膿疱症の水疱形成機序の病態解明にも取り組みました。

【方法】

■発汗の可視化

観察部位は、通常観察に用いられるマウス体幹ではなく、表皮構造がヒトに類似し、ヒトと同様の汗腺組織を有する手足の指腹としました。蛍光色素である、フルオレセイン、スルホローダミン 101、LipiORDER[®]の3つを混合した色素(JSAC と命名、)を C57BL/6 マウスに経静脈的に投与し、発汗刺激であるピロカルピンを投与した上で、二光子励起顕微鏡を用いて指腹におけるライブイメージングを行いました。



図 1 JSAC

■表皮内における汗漏出現象の作出

私たちは過去に、掌蹠膿疱症では、初期病変である表皮内水疱が表皮内汗管を中心とした領域に生じ、エクリン汗由来の抗菌ペプチド(hCAP-18/LL-37)が含有されていることを証明しています。また二光子励起顕微鏡を用いて掌蹠膿疱症病変部の三次元的観察を行い、水疱と表皮内汗管との直接的な関連も示しています。これらの結果より、掌蹠膿疱症の初期水疱の形成機序として、「表皮内汗管より漏出したエクリン汗が、表皮角化細胞間の接着構造を障害する」という仮説を立て、発汗の可視化技術を用いてこの仮説を実証することとしました。具体的な方法としては、上記ライブイメージングシステムに、二光子励起顕微鏡によるレーザーアブレーション技術を組み合わせ、表皮内汗管を局所的に物理的に損傷させる(本技術を LASER-snipe と命名、)ことにより、マウス指腹において表皮内汗漏出現象の作出を試み、観察を行いました。

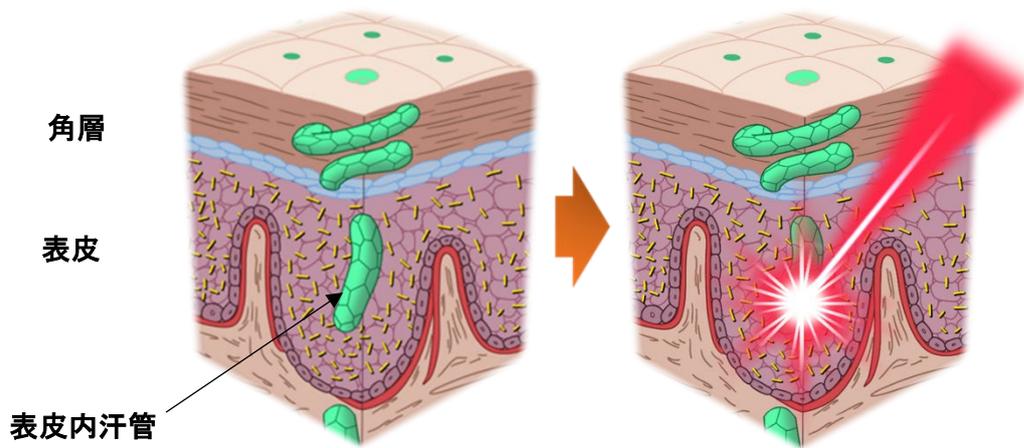


図2 LASER-snipe

【結果】

■発汗の可視化

上記ライブイメージングシステムによる観察で、マウス指腹の表皮内汗管における螺旋構造を明瞭に描出することに成功しました(図3)。まず、JSACのフルオレセインが汗管に流入し、続いて汗管の内壁がスルホローダミン101(図3赤)により描出され、LipiORDER®によって、表皮内汗管周囲の表皮角化細胞が染色され、良好なコントラストが得られました。

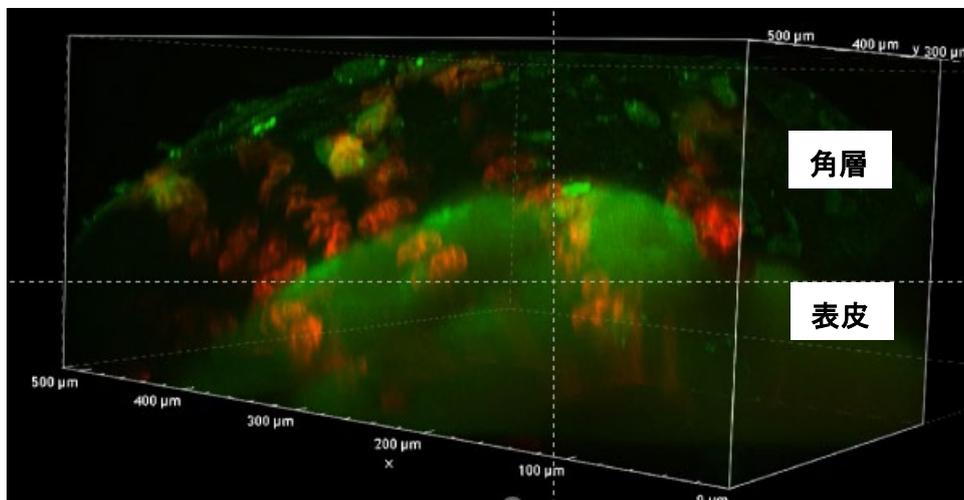


図3 マウス指における発汗の三次元ライブイメージング

■表皮内における汗漏出現象の作出

LASER-snipeにより、生きたマウス表皮内汗管からの汗漏出現象を再現することに成功しました。さらなるタイムラプス観察により、この漏出した汗によりできる空間は同心円状で、ヒトの掌蹠膿疱症で見られる表皮内水疱の形状に類似(図4)することが明らかとなり、本マウスは掌蹠膿疱症の初期水疱モデルマウスとなりうる可能性が示唆されました。また、ヒトの手掌および足底の汗に多く含まれるインターロイキン-1が表皮角化細胞間の接着構造を障害することをマウス皮内局所投与実験で明らかにし、上述の仮説を実証しました。

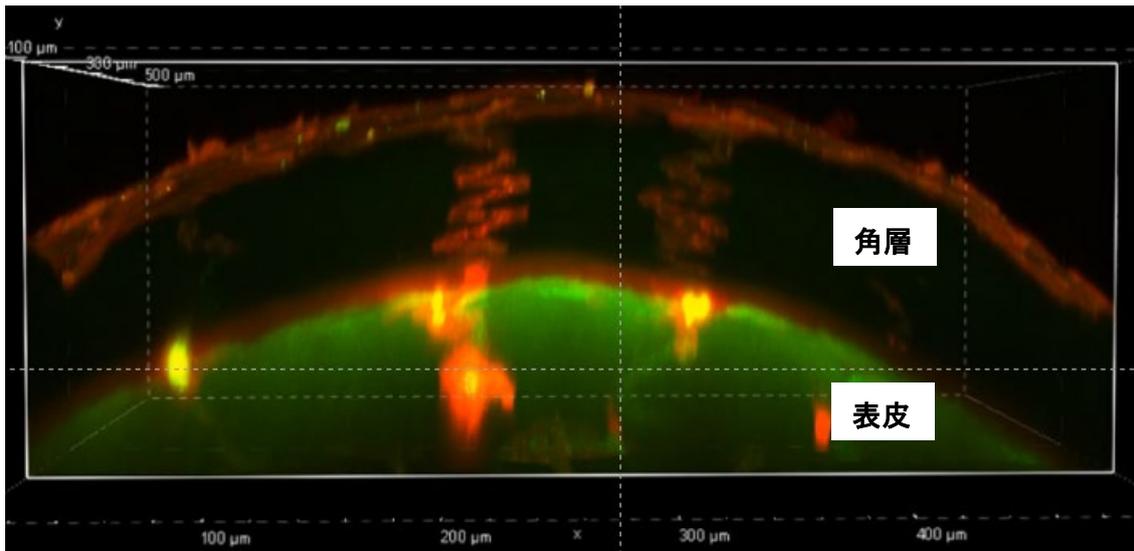


図 4 LASER-snipe により漏出した汗の三次元ライブイメージング

【結論】

本研究では、世界で初めて、生きたマウスの発汗現象を明瞭に三次元的にライブイメージングすることに成功しました。また、本技術を用いて、掌蹠膿疱症のモデルマウスの作製にも成功し、今後は、様々な汗関連疾患の病態解明および創薬に結びつく研究が進展することが期待されます。