

Title	Structural and functional analysis of human sweat glands
Author(s)	倉田, 隆一郎
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/54025
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (倉 田 隆 一 郎)

論文題名

Structural and functional analysis of human sweat glands
(ヒト汗腺の構造機能解析)

論文内容の要旨

ヒト汗腺は体幹の全表面に分布しており、汗を分泌してその気化熱を利用して体温調節を行っている。汗腺は、単一の管状腺であり、大きく汗管と分泌腺に分けられる。汗腺は皮膚深部において、分泌部と一部の汗管が複雑なコイル構造を形成する。汗腺が複雑なコイル構造を持つことは組織学的解析から明らかとなっているが、詳細なコイル構造については未確定のままである。また、この特徴的な構造を持つ汗腺は胎生期にその発生が完了するが、発生後の汗腺の構造及び機能維持については未解明のままである。汗腺の構造及び機能の調節機構を理解することは、熱傷患者等への臨床的利点に繋がる。本論文では汗腺の複雑なコイル構造を3次元構造解析によって詳細に可視化し、さらに、汗腺コイル構造を構成する分泌腺内に存在する自己複製能と多分化能を有した汗腺幹細胞を同定した。

ヒト汗腺の3次元構造の可視化

汗腺の複雑なコイル構造を可視化するために、汗腺を構成する細胞区画ごとに識別可能な汗腺細胞マーカーを選定した。汗腺細胞マーカーとして、汗管を構成する管腔細胞と基底細胞をS100P及びS100A2で、分泌腺を構成する管腔細胞及び筋上皮細胞をKeratin8及び α SMAで標識できることを確認した。続いて、選定した汗腺細胞マーカーを用いて、3Dイメージングによる立体的な汗腺コイル構造の観察を試みた。ホールマウント染色を施した汗腺の3Dイメージングから、汗腺は密接したコンパクトなコイル構造を形成していた。また、汗管は一定の頻度で折れ曲がってコイルを形成しているのに対し、分泌腺は管状のチューブ自体が立体的に絡まりながらコイル構造を形成していた。さらに汗腺分泌腺の基底層に局在する筋上皮細胞は、伸長した紡錘状の細胞形態を示し、かつ分泌腺の長軸方向に沿って配向していた。これらの結果は、分泌腺を取り巻く筋上皮細胞が収縮することにより汗腺の汗分泌が促進することを示唆している。

ヒト汗腺幹細胞の同定

本論文では、ヒト汗腺に存在する幹細胞を同定することに成功した。汗腺を構成するどの細胞区画に幹細胞が存在するかを検証するために、まず汗腺を構成する管腔細胞及び筋上皮細胞の分離方法を検討した。細胞表面マーカーを用いることにより、筋上皮細胞集団と管腔細胞集団を各々CD29^{hi}CD49f^{hi}とCD29^{hi}CD49f^{hi}AQP5⁺の細胞集団として単離する方法を確立した。続いて各汗腺細胞の自己複製能及び多分化能をsphere assay法によって評価した。筋上皮細胞は、マトリゲル含有培地で培養することにより、sphereを形成した。筋上皮細胞から形成されたsphereは、内腔側に管腔細胞マーカーを発現していた。筋上皮細胞は管腔細胞へ分化したことから、筋上皮細胞が多分化能を有していることが示された。また、筋上皮細胞から形成されたsphereを単一細胞へと消化し再度sphere assayを行ったところ、消化細胞から繰り返しsphereが形成されたため、筋上皮細胞が自己複製能を有することが示された。以上の結果から、汗腺筋上皮細胞は自己複製能及び多分化能を有した幹細胞であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (倉 田 隆 一 郎)			
	(職)	氏	名
論文審査担当者	主査	教授	関口清俊
	副査	教授	吉川和明
	副査	教授	岡田雅人

論文審査の結果の要旨

ヒト汗腺は、複雑なコイル構造を形成する単一管状の外分泌腺であり、発汗を通じて個体の体温調節を行なっている。解剖学的には、汗腺は汗管と分泌腺に大別され、分泌腺は汗を分泌する管腔細胞とその周囲を覆う筋上皮細胞で構成されている。しかし、汗腺の構造に関する研究は、これまで主に組織学的手法を用いて行なわれてきたため、その正確な三次元構造に関しては不明の点が多く残されている。また、汗腺の機能維持にかかわる幹細胞についても研究はほとんど行なわれていない。

本論文では、まず汗腺の詳細な全体構造を可視化するために、3次元イメージングによる汗腺の観察を試みた。ホルマウントで染色を施した汗腺はコンパクトなコイル構造を形成しており、汗腺の分泌腺は立体的に非常に絡まった構造をとっていた。さらに分泌腺の基底層に局在する筋上皮細胞は伸長した細胞形態を示し、かつ分泌腺の長軸方向に沿って配向していることを見いだした。これらの結果は、分泌腺を取り巻く筋上皮細胞が収縮することによって、効率よく汗が分泌されることを示唆している。

続いて本論文では、ヒト汗腺に存在する幹細胞の同定を試みた。汗腺に幹細胞が存在することを実証するために、まず汗腺を構成する管腔細胞及び筋上皮細胞の分離方法を検討し、筋上皮細胞集団と管腔細胞集団を各々CD29^{hi}CD49f^{hi}とCD29ⁿⁱCD49fⁿⁱAQP5⁺の細胞集団として単離することに成功した。得られた各細胞集団の自己複製能及び多分化能を sphere assay 法によって評価した結果、マトリゲル含有培地で培養することにより、(i) 筋上皮細胞が sphere を形成する能力を持つこと、(ii) 筋上皮細胞から形成された sphere が内腔側に管腔細胞マーカーを発現しており、筋上皮細胞が管腔細胞への分化能を有していることを見いだした。また、筋上皮細胞から形成された sphere を単一細胞へと消化し、再度 sphere assay を行ったところ、消化細胞から繰り返し sphere が形成され、筋上皮細胞が自己複製能を有することが示された。これらの結果は、汗腺筋上皮細胞が自己複製能及び多分化能を有した幹細胞であることを示している。

以上、本論文では、ホルマウント染色を用いて汗腺の詳細な立体構造を解明するとともに、分泌腺を構成する筋上皮細胞が自己複製能と多分化能を持った汗腺幹細胞であることを明らかにし、汗腺の構造と機能の理解を深める重要な貢献を行なった。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。