

三次元可視化による化学物質の色素細胞への影響の新規評価系確立とその応用

京都大学皮膚科 本田哲也 椋島健治 宮地良樹

研究概要

はじめに

皮膚の色調は血流や様々な色素によって構成されますが、それら色素の中でメラニンが皮膚の色調を決定するもっとも重要な因子です。

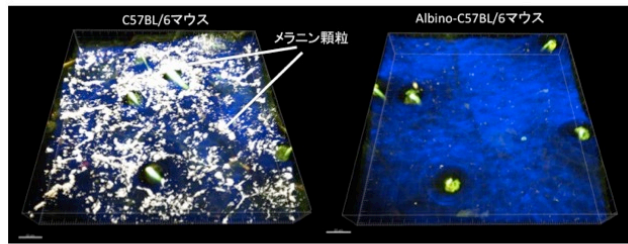
これまで、皮膚のメラニン量を測定する手法がいくつか考案されてきました。その一つとして、皮膚組織をすりつぶし、その抽出物中からメラニンを定量する方法があります。この手法はメラニン量を確実に定量できますが、生体に侵襲を伴うため、より低侵襲な方法が望まれます。別のメラニン定量法として、皮膚の写真からメラニン量を推定する手法も考案されています。この手法は侵襲を伴わない利点がありますが、メラニン量を直接的に評価できないため、定量性が低くなる欠点があります。

近年、二光子励起顕微鏡という蛍光顕微鏡が開発されました。この顕微鏡は、従来の蛍光顕微鏡にくらべ深部の組織構造が 3 次元的に観察可能であり、また「自家蛍光」と呼ばれる蛍光を検出できるため、生体の様々な構造物を特殊な処理を必要とせずに直接的に観察することができます。

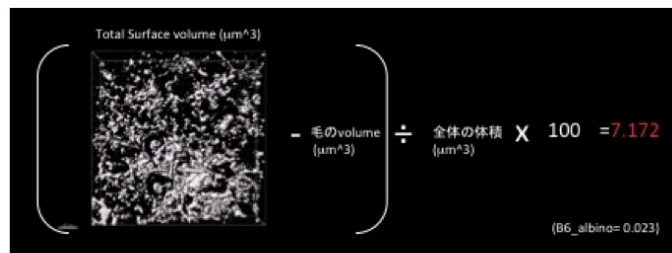
我々は、二光子励起顕微鏡に着目し、皮膚のメラニン量を「低侵襲に」「直接的に」定量できることを目指し、実験を開始しました。

実験方法と結果

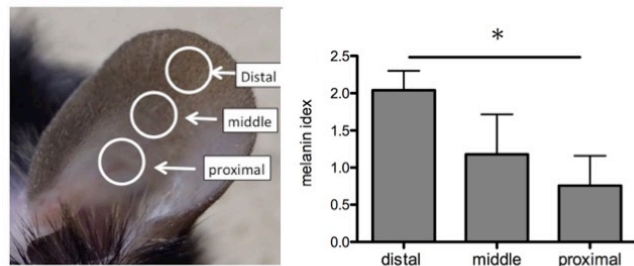
まず、二光子励起顕微鏡でメラニンが観察可能かどうか、動物(マウス)を用いて検討を行いました。その結果、メラニンは強い自家蛍光を発し、他の構造物と明らかに区別可能であることがわかりました(上図)。次に、メラニン量の定量を試みました。ソフトウェアを用いて、メラニンの蛍光シグナルの体積を算出し、単位体積あたりに占める割合で評価しました。マウス皮膚の部位別のメラニン量を比較したところ、その違いを検出することが可能でした(中図)。最後に、ヒト皮膚で同様の観察を行いました。ヒト皮膚においても、メラニンの自家蛍光が検出されました。さらにロドデノール使用後に生じた白斑部位では、それらの自家蛍光はほぼ消失していることがわかりました(下図)。



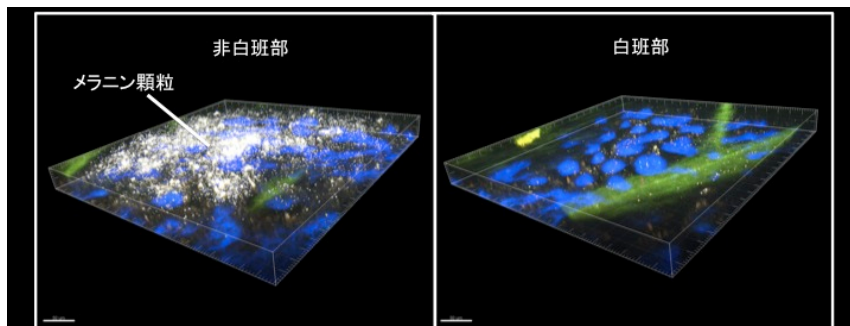
二光子励起顕微鏡でのマウス皮膚観察像。左は通常マウス皮膚。メラニンの自家蛍光シグナル(白色)が認められる。右は、メラニンを持たないマウス皮膚の観察像。青色はコラーゲンファイバー。



メラニン定量法。メラニンの自家蛍光シグナルの体積をソフトウェアで算出し、単位体積あたりの割合で算出 (Melanin index)。



マウス皮膚の部位別メラニン定量。マウス耳介皮膚を遠位(Distal)、中位(middle)、近位(proximal)にわけ、melanin indexを算出。(* p<0.05)



考察と今後の展望

本研究により、二光子励起顕微鏡は、メラニンの量を低侵襲的かつ直接的に評価できるツールとなる可能性が大きく示唆されました。

しかし、幾つか課題もあります。まず、ヒトに使用可能な二光子励起顕微鏡は、非常に高額であることから、ごく限られた施設にしか存在しません。また、観察範囲が狭いことも課題の一つです。

将来的な機器開発の発展によりこれらの課題が克服されれば、二光子励起顕微鏡を用いた本定量法は、メラニン定量の強力な手法となり得るものと考えています。