

平成 28 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目：個人研究

研究期間：平成 28 年 4 月～平成 29 年 3 月

研究課題名：血管網形成モデルを利用した細胞間コミュニケーションによる血管新生メカニズムの解明

ラボ長

所属：物質創成専攻・化学工学領域

氏名：劉楊

研究成果（当初の研究目的と得られた結果を記載してください。図表を含め 3 ページ程度）：

本研究では、生体と類似な三次元培養条件下でのモデルシステムを開発し、それを利用して細胞間コミュニケーションのメカニズムを明らかにすることを目的とする。本年度（平成 28 年 4 月～平成 29 年 3 月）は、機械的刺激を感知する細胞のメカノセンシング機構における細胞間コミュニケーションに着目し、細胞シートへの機械的刺激を与える実験装置を設計し、細胞のみからなる細胞シートにおける細胞のメカノセンシングを検討した。

細胞のメカノセンシングとは、癌細胞転移や幹細胞の運命決定などの細胞挙動に関与しており、細胞と細胞外マトリックス、または細胞と細胞間の接触、その両方からの機械的刺激に応答する。近年、細胞を機械的に引っ張るために弾性材料上に培養された細胞を利用する、細胞とマトリックスの接着を介した機械的な影響の検出に多くの研究努力がなされている（F Twiss, *et al.* *Biol. Open.* 1, 1128, 2012）。しかしながら、これらの弾性材料の機械的な特性は、生理的な条件とは著しく異なる性質を有する（Y Pang, *et al.* *Biomaterials.* 2, 3776, 2011; C Liu, *et al.* *Cell. Mol. Bioeng.* 7, 106, 2014）。したがって、生理的な条件下での細胞のメカノセンシング機構を生体外に再現するための適切な実験モデルの構築がまだ必要である。さらに、すべてのメカノセンシングが細胞とマトリックスの接着を介して行われるわけではない（T Luo, *et al.* *Nat. Mat.* 12, 1064, 2013）。細胞とマトリックスの接着以外のメカノセンシング機構の詳細を明らかにするために、細胞と細胞外マトリックスの接着の影響を抑制した実験モデルの構築も必要である。

上記の要件を考慮に入れて、外部からの機械的なストレッチによって個々の細胞の動的な変化を光学顕微鏡で観察するための装置を開発した（図 1A と 1B）。この装置を利用すると、細胞シートを顕微鏡のステージの上で引っ張ることができる。細胞シートは、細胞のみから構成して組織モデルである。細胞外マトリックスからのいかなる機械的な影響が存在せず、生体内と同様に細胞と細胞間の接着を維持できる理想的な観察対象と考えている。具体的なデバイスの設計を図 1A に示すように、設計された引っ張り装置は、2 つの真空チャンバを有する。直径 300 μ m の貫通孔を有する PDMS メッシュはチャンバの上に張った。引っ張る実験方法としては、まず、細胞シートを PDMS メッシュ上に付着させた。貫通孔の上に張った細胞シートは、マトリックスとの接着は存在せず、細胞間の接着のみ存在した。その後、真空圧力下でチャンバの形状を変化させることによって、PDMS メッシュが引っ張られた。その結果として、細胞シートも引き伸ばされた。真空チャンバ間の距離およびチャンバの壁の厚みを調整すれば、細胞シートの伸長率も調整可能である。細胞シートの伸長率は、元の状態から 1.3~2 倍に達成した（図 1C）。得られた結果により、細胞シートを引っ張る装置が、生細胞における細胞のメカノセンシングのメカニズムを理解するための有用なツールとなり得ることを裏つけられた。以上に示した結果は、1 編の学術論文

として掲載され、1編の国際学会で発表するに至っている。

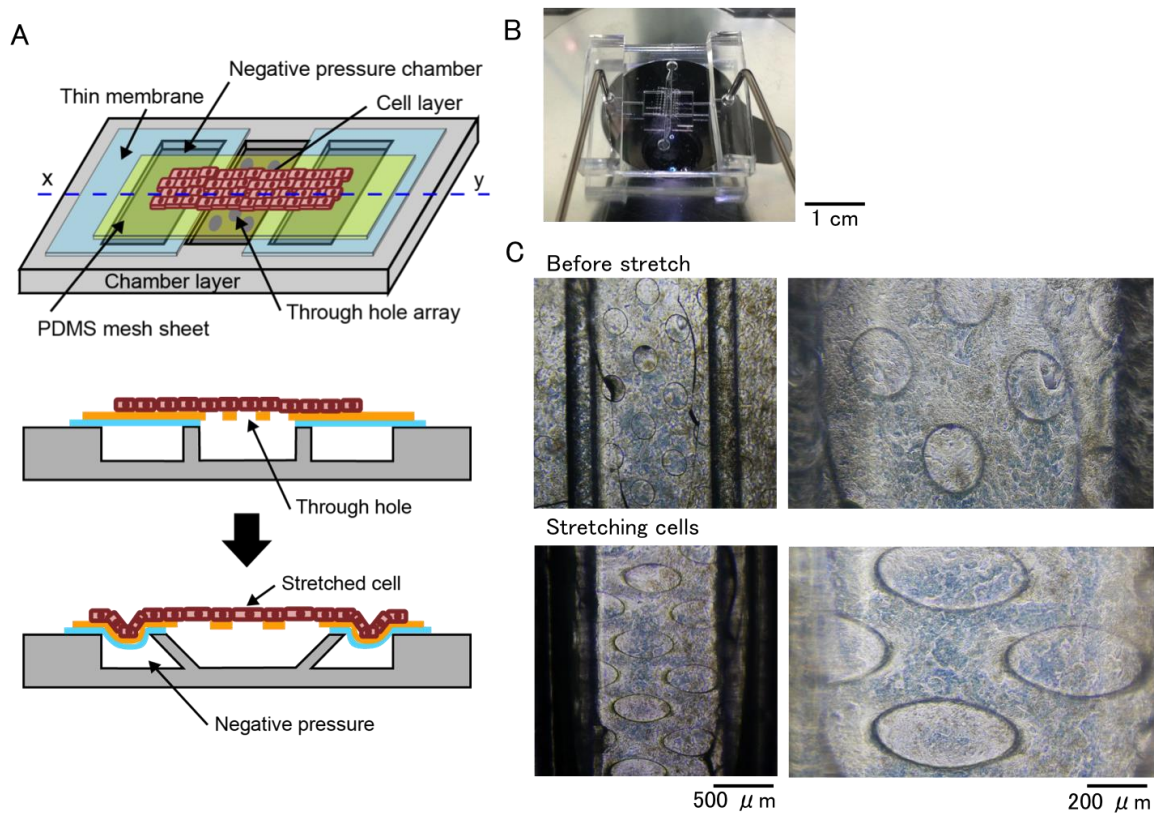


Figure 1 (A) Scheme and (B) photograph of cell-sheet extension device. (C) Microphotographs of Caco-2 cell-sheet stretched by using the cell-sheet extension device.

キーワード：細胞間コミュニケーション、メカノセンシング、細胞シート、BioMEMS

研究経費（H28年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
0円	90,000円	0円	0円	0円	90,000円

共同研究者等

(1) 共同研究者（氏名・所属）

藤田英明・大阪大学免疫学フロンティア研究センター

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

なし

発表論文等（平成 29 年 3 月 31 日現在）

〔雑誌論文〕

Yang Liu, Yoshihiro Ojima, Masanobu Horie, Eiji Nagamori, Hideaki Fujita. Design and fabrication of devices for investigating cell-sheet stretch, BioChip J., DOI:10.1007/s13206-017-1301-1. (In press)

〔学会発表〕

Yang Liu, Yoshihiro Ojima, Masanobu Horie, Eiji Nagamori, Masahito Taya and Hideaki Fujita, A Cell-sheet Extension System for Microscopic Observation of Cellular Mechanosensing in individual Living Cells, YABEC2016, Miyazaki, Japan, October 27-29, 2016.

外部資金獲得状況・申請状況（本研究課題に関連して、科研費、JST 等の競争的資金、受託研究、奨学寄付金等を受給された場合、また、申請された場合はその状況を記入ください）

該当しない

参考となるHP等

なし