

＊課題番号 : F-12-HK-0035
 ＊支援課題名 (日本語) : Micropillar 法による腱細胞細胞骨格張力および機能の調節に関する検討
 ＊Program Title (in English) : Modulation of cytoskeletal tension of tenocytes using micropillars
 ＊利用者名 (日本語) : 杉本恵, 前田英次郎, 大橋俊朗
 ＊Username (in English) : Megumi Sugimoto, Eijiro Maeda, Toshiro Ohashi
 ＊所属名 (日本語) : 北海道大学大学院工学研究院人間機械システムデザイン部門
 ＊Affiliation (in English) : Graduate School of Engineering, Hokkaido University

※概要 (Summary) :

局所的力学環境に対する腱細胞の応答を詳細に解明することを目的とし、剛性の異なるマイクロピラー基質を微細加工技術を用いて作製した。基質上で 24 時間培養した単離腱細胞の牽引力を計測するとともに、I 型コラーゲンと MMP-1 の遺伝子発現変化を調べた。

※実験 (Experimental) :

PDMS 製マイクロピラー基質 (直径 3 μm , 中心間距離 8 μm) はフォトレジスト SU-8 およびマスクアライナー (ミカサ) を用いたフォトリソグラフィを用いて作製した。ばね定数はクロスキャリブレーション法により求めた。異なる剛性のピラー基質を作製するため、ピラーの高さを 4, 8, 10 μm とした 3 種類の基質を作製した。マイクロピラーの上面には I 型コラーゲンをコーティングし、細胞接着を促した。

雄ウシ中手指関節伸筋腱から単離した腱細胞をマイクロピラー上に播種して 24 時間培養した後、光学顕微鏡でマイクロピラーのたわみ量を計測し、牽引力を測定した。その後、細胞試料から RNA を抽出して定量リアルタイム PCR 解析を行い、I 型コラーゲンと MMP-1 の遺伝子発現の解析を行った。

※結果と考察 (Results and Discussion) :

基質のヤング率ごとの腱細胞の牽引力を図 1(a)に示す。6 kPa の基質上の腱細胞の牽引力は、それぞれ 18 kPa と 33 kPa の基質上の牽引力に対し有意に小さいことがわかった。同様に、18 kPa の基質上の腱細胞の牽引力は 33 kPa の基質上の牽引力に対し有意に小さいことがわかった。これより、有効ヤング率の増加に伴い、細胞牽引力が有意に増加していることが確認された。基質の有効ヤング率ごとの腱細胞の遺伝子発現量を図 1(b)に示す。I 型コラーゲン発現量については群間に有意差は見られなかった。一方、MMP-1 については 33 kPa の基質上の腱細胞の発現量に対して 6 kPa の基質上の腱細胞の発現量が有意に大きいこと

が確認され、有効ヤング率の低下に伴い遺伝子発現が増加する傾向が見られた。

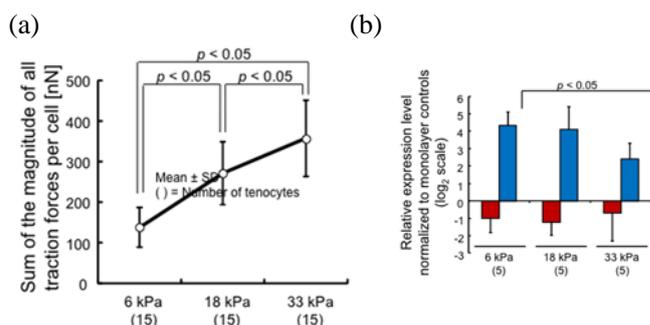


図 1 (a)細胞牽引力測定結果. (b)遺伝子発現解析結果. 赤 : I 型コラーゲン, 青:MMP-1.

※その他・特記事項 (Others) :

今後は細胞の牽引力を上昇させる方法や対象とする細胞種について、改良を行う。

共同研究者等 (Coauthor) :

なし

論文・学会発表 (Publication/Presentation) :

- [1] E. Maeda, M. Sugimoto, T. Ohashi, Cytoskeletal tension modulates MMP-1 gene expression from tenocytes on micropillar substrates. *Journal of Biomechanics*, 46(5) 991-997, 2013.
- [2] M. Sugimoto, E. Maeda, T. Ohashi, Elasticity-dependent regulation of traction forces and MMP-1 gene expression from tenocytes. 18th Congress of the European Society of Biomechanics (Oral), 2012/7, Lisbon, Portugal.

関連特許 (Patent) : なし