

課題番号 : F-16-HK-0075  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : 温熱刺激下における臍細胞間ギャップ結合コミュニケーションの経時変化  
Program Title (English) : Characterization of gap junction communication between tenocytes under heat stress in vitro  
利用者名(日本語) : 前田 英次郎, 大橋 俊朗  
Username (English) : E. Maeda, T. Ohashi  
所属名(日本語) : 北海道大学大学院工学研究院  
Affiliation (English) : Hokkaido University

## 1. 概要(Summary)

本研究は臍細胞のギャップ結合と生理機能制御の関連に着目し, 細胞間物質輸送を可視化する共焦点顕微鏡法 FLIP 法に加えて, FLIP 実験結果から細胞内および細胞間拡散係数を推定する数理モデルを適用することで, 細胞間の物質移動度の指標としての細胞間拡散係数を求める実験を行い, 細胞間物質輸送に及ぼす熱ストレスの影響を調べる実験を行った. 実験サンプルには, 微細加工を用いて作製したマイクログループ細胞培養基板を組み込んだ PDMS 製デバイスに臍細胞を播種したものをを用いた. その結果, 臍細胞に 41°C または 43°C の熱刺激を 30 分間付与しても細胞間拡散係数は 37°C 刺激後とほぼ同じ値を示した. このことから, 熱ストレスは臍細胞間の物質輸送, すなわち細胞間コミュニケーションに影響を及ぼさないことが示唆された.

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

スピナー, 両面マスクアライナー

### 【実験方法】

PDMS 製のマイクログループ実装実験デバイスを作製し実験に用いた. 幅・間隔が 10  $\mu\text{m}$  の溝パターンが描画されたガラスフォトマスクをマスクアライナーにセットし, スピナーを用いてフォトリソ SU-8 が 10  $\mu\text{m}$  コーティングされたシリコンウエハ片を紫外露光した. これを現像することでマイクログループ鋳型を作製した. 次にソフトリソグラフィーを用いて高さ・幅・間隔が 10  $\mu\text{m}$  のマイクログループを PDMS 製薄膜の細胞培養面にパターンニングし, 同じく PDMS で作製した流路パーツを接合することでデバイスを作製した. マイクログループ表面は細胞培養に先立ちプロネクチンでコーティングした.

デバイス内に播種した臍細胞に対して, 臍細胞の生理

的環境温度である 37°C, および 41°C, 43°C を 30 分間保持した. 刺激直後または 24 時間後に FLIP 実験を行い, ギャップ結合物質輸送の指標として細胞間拡散係数を求めた.

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

熱刺激実験直後(0h)の細胞間拡散係数は 37°C 刺激と 41°C 刺激, 43°C 刺激の間に有意差は認められず, また, 刺激 24 時間後においても 3 群の間に有意差は認められなかった. このことから本研究で行った熱刺激のレベルでは細胞間物質輸送に影響を及ぼさないことがわかった. 本研究ではこの他に熱刺激による細胞機能の変化や人為的に細胞間物質輸送を増減させた際の細胞応答の検討も行った.

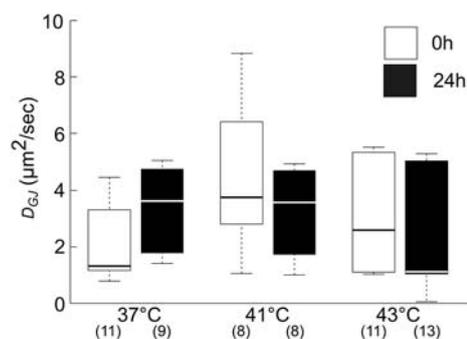


Fig. 1 Intercellular diffusion coefficients of tenocytes at 0 and 24 h after the heat stimulation.

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) Maeda, E., Pian, H., Ohashi, T., *BBRC* 482 (2017), pp.1170-1175.
- (2) 前田英次郎ほか, 第 29 回バイオエンジニアリング講演会, 平成 29 年 1 月 20 日.

## 6. 関連特許(Patent)

なし