

【目的】体外での臓器構築の実現を目指す組織工学分野において、生体内で細胞が形成する精緻な立体構造やそれ由来する機能を再現するため、微細加工技術を用いたさまざまな形状の足場素材が製作され、細胞培養に用いられてきた。このような研究が進展するにつれ、これまで細胞の挙動に影響を与えないとみなされてきた曲率半径数百 μm の曲面構造が、組織の運動や形質の決定を誘導する物理的な入力であることが明らかになり、近年大きな注目を集めている。このような現象を説明するため、細胞には張力を用いて自らよりも巨大な構造の形状を認識する仕組みが備わっているものと予想されているが、立体面上で組織が発する力を定量的に評価する手法が存在せず、この予想は仮説の域を出ない。本研究は、細胞の形状認識機構を解明するための基盤技術として、凹凸曲面上で組織が発する力を評価する新規計測技術の開発を目的とする。

【方法】細胞が一樣なシート上組織を形成して立体面上に存在するとき、組織はそれぞれの細胞接着部に対して力を及ぼす。その力の大きさを、組織の面積で除した量を組織接着圧 P と定義する。本研究は、曲率を操作可能な細胞培養環境を構築し、凹面上と凸面上で組織接着圧を評価可能な新しい計測系を構築した。まず、空気槽、シリコンゴム薄膜、細胞培養槽からなるマイクロ細胞培養デバイスを製作した (図左)。このマイクロ細胞培養デバイスは、空気槽内の圧力を操作することで、細胞培養面の曲率を数 mm^{-1} の範囲で操作することが可能である。このマイクロ細胞培養デバイスの内部で、培養面を凹面もしくは凸面に保ちながらヒト大動脈血管平滑筋細胞 (HASMC) をコンフルエント状態になるように培養し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて培養面の立体形状を観察した。次に、トリプシンを用いて HASMC を除去し、再び培養面の立体形状を観察した。最後に、細胞除去前後の培養面の曲率の僅かな変化から、HASMC が曲面状の培養面に及ぼしていた組織接着圧 P を評価した (図中央)。

【結果】マイクロ細胞培養デバイス内の空気槽内部の圧力を操作し、培養面の形状を凹面もしくは凸面に維持した状態で、HASMC はその上に一樣なシート状構造を形成した。トリプシン処理により HASMC を除去した結果、凹面・凸面どちらの場合においても培養面の曲率が 0.1mm^{-1} 前後変化した (図右)。細胞の有無に起因するこの曲率変化は、細胞が接着時に曲面に及ぼしていた力の大きさを反映しており、シリコンゴム薄膜の特性から、その大きさは組織接着圧 P として凹面上で 19hPa 、凸面上で 34hPa と算出された。培養面の曲率と細胞密度をもとに、この値を単一細胞あたりの張力に換算したところ、その値は凹面上で $3.1\mu\text{N}$ 、凸面上で 6.4N であった。この値は、先行研究によって報告された、平面上で HASMC が発する張力の大きさ ($4\sim 12\mu\text{N}$ 程度) と比較しても妥当なスケールである。また、本研究では凸面上でより大きな組織接着圧が算出された。間葉系幹細胞 (MSC) が凸面上で示す特異的な骨分化現象を報告した他グループによる先行研究では、凸面上で存在する MSC が核内に多くの中間径繊維 Lamin A を持ち、核により強い細胞張力が加わっていることが示唆されていたが、本研究の結果はこの既報とも符合する。今後、本手法を用いて、曲率を変えた様々な曲面上で組織が発する力の大きさを計測することで、細胞の曲面検知および応答において細胞張力が発する役割が明らかになると期待される。

マイクロデバイスを用いる曲面上での細胞張力の測定

