

令和元年6月18日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04281

研究課題名(和文) 熱療法を指向した高温環境条件下での細胞挙動のダイナミクスとその高精度速度論的モデル

研究課題名(英文) Dynamics of Morphological Changes of Cells and Its High-Accuracy Kinetic Model under High Temperature Related to Thermal Therapy

研究代表者

石黒 博 (ISHIGURO, Hiroshi)

九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授

研究者番号：30176177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：高温ストレスに曝された付着培養細胞に対して、デジタルホログラフィー顕微鏡を用いた3次元・タイムラプス撮影を行い、細胞の形態変化の挙動を調べ、その定性的・定量的・統計的特性、および、温度(40.0~47.5℃)の影響を解明した。次いで、細胞の特徴的な形態変化を経て形態崩壊に至る一連の過程に対して、高精度の速度論的モデル化を提案・展開した。さらに、細胞崩壊に対して、抗酸化作用を有する添加剤の保護効果を見出した。また、低温ストレス(35.0~2.5℃)の場合にも、上記と同様の内容について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞の基本的特性の一つである形態変化のダイナミクスについての詳細な理解は、熱生物学的特性という基礎的観点から大変興味深いと共に、機序の解明、数学的モデル化、関連プロセスや機器の設計・最適化などの点から重要で、医療応用(応用範囲・適用条件の拡大、高精度化と信頼性の向上)に資する。

研究成果の概要(英文)：Morphological changes as one of fundamental characteristics of adherent cultured cells were investigated by time-lapse 3D imaging using digital holographic microscopy to understand the dynamics of morphological changes under the higher-temperature stress (40.0-47.5℃) than 37.0℃. Next, a high-accuracy kinetic model was proposed and developed to describe mathematically the process through the characteristic morphological changes of cells to the morphological collapse. In addition, the protective effect of antioxidants on the collapse of cells (cell death) was found out. Also, the above similar characteristics: the dynamics of morphological changes, the mathematical model and the effect of antioxidants, under the lower-temperature stress (35.0-2.5℃) than 37.0℃ were made clear.

研究分野：工学 機械工学 熱工学

キーワード：熱工学 バイオ熱工学 温度環境 細胞挙動 形態変化 ダイナミクス 数学モデル 逆問題解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体熱工学における高温（生理的温度より高温）の医療応用として、ガン温熱療法と熱凝固療法があり、いずれの場合も細胞や組織は高温ストレスにより損傷・死滅する。この応用に関連して、高温ストレスに対する細胞応答や死滅様式、死滅特性などを含めた現象のより詳細な理解は、そのメカニズムの解明、数学的モデル化、関連プロセスや機器の設計・最適化などの点から重要である。また、高温ストレスに対する細胞の応答は、生物の熱的特性という基礎的観点からも興味深い。細胞は、ストレスにより形態変化として、細胞膜表面での小胞形成やブレブ形成（細胞内容物の突出）を経て、死に至ることが多くある。さらに、細胞死滅様式（ネクローシスとアポトーシス）に対応するようなブレブを形成するという結果も報告されている。従って、ストレスによる細胞死に関して、細胞形態の時系列変化の詳細情報を把握することは重要である。一方、細胞の形態変化の時系列変化の計測には、通常は光学顕微鏡を用いたタイムラプス撮影が用いられるが、2次元的形態（細胞の輪郭）情報に限定される。従って、ブレブの形成を含め、細胞の形態変化の詳細情報を得るには、細胞の厚さや体積などを評価することが有益である。近年、水溶液中の細胞に対して、ホログラフィーの位相差情報から細胞の厚さを計測できるデジタルホログラフィー顕微鏡（DHM）が開発され、利用され始めている。

2. 研究の目的

この背景において、本研究では、温度ストレスに曝された場合の細胞の応答挙動のより良い理解を目指し、DHMを用いたタイムラプス撮影により、細胞の変形、移動、分裂、崩壊などの時系列3次元的形態変化に注目し、細胞の体積、投影面積、平均厚さや最大厚さ、細胞の移動特性を定量的・統計的に評価し、細胞の動的挙動に対する温度の影響を解明した。さらに、細胞の特徴的な形態変化を経て崩壊に至る一連の過程を数学的に記述する速度論的モデル化を展開した。また、一部、低温条件の場合、および、抗酸化剤の添加による細胞の保護効果についても検討した。

3. 研究の方法

(1) 実験材料

実験材料（モデル細胞）は、ヒト前立腺癌由来細胞株 PC-3（理研細胞バンク）（剥離状態で直径約 20 μ m 程度）を用いた。細胞は 60mm ディッシュに播種され、10v/v%の牛胎児血清（FBS）を添加した Dulbecco's modified Eagle medium を培地とし、37.0 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 下で 3 日毎に継代された。実験試料は、35mm ディッシュ内の培養中の付着細胞（初期細胞数密度をコンフルエント状態に対して 10%程度）で、実験開始の約 6hr 前に新しい培地（2.0ml）と交換した。

(2) 実験装置・方法

① デジタルホログラフィー顕微鏡（DHM）

DHM（HoloMonitorTM M3, Phase Holographic Imaging 社製）を用い、水溶液中の細胞に対して、細胞内・外の水溶液の屈折率の差と細胞の厚さ分布による光路長差に基づく、ホログラフィーの位相差情報から細胞の厚さ情報が得られる。従って、顕微鏡の視野中の全細胞に対して、位置情報と2次元形態情報に加え、厚さ分布を含めた3次元的形態情報を時系列で取得できる。対物レンズ 20 倍に対して、1 画像（ホログラフィー画像）は、438 μ m \times 350 μ m（960 画素 \times 768 画素）で、1 画像/5min で 72hr 間に渡ってタイムラプス撮影した。なお、本研究では、培地および細胞内水溶液の屈折率（各々 1.34 および 1.38）を既知として与えた。

② 顕微鏡用細胞培養装置

DHM に装着された顕微鏡ステージ用の細胞培養装置（UNO Incubator, okolab 社製）に、細胞が付着したディッシュをセットし、所定の一定温度条件下で 5%CO₂ と飽和水蒸気を含む空気を供給した。

③ 温度条件

通常の培養条件の 37 $^{\circ}$ C（基準状態）、および、温度ストレスとして、高温条件（40.0, 41.0, 42.0, 43.0, 44.0, 45.0, 47.5 $^{\circ}$ C の 7 通り）と低温条件（2.5, 4.0, 8.0, 20.0, 30.0, 35.0 $^{\circ}$ C の 6 通り）とした。37.0 $^{\circ}$ C の初期状態から、ステップ的に所定の一定温度に変化させ 72 時間保持した。

④ DHM データの解析

DHM から得られた 3 次元的形態情報は、細胞毎に定量化され、細胞の厚さ分布、最大厚さ・平均厚さ、体積、投影面積、移動速さなどを算出した。細胞の移動速さは、5min 毎の細胞頂点（最大厚さ位置）の移動距離（絶対値）に対して定義された。

4. 研究成果

(1) 高温ストレス下の細胞の応答挙動と形態変化の定義・分類と定性的特性

結果のまとめを表 1 に示す。表中、横棒の太さは、定性的に、項目 1), 2) に関しては、活発さの程度を、項目 3)~11) に関しては、細胞数や頻度の多さの程度を表す。また、温度は $\pm 0.5^{\circ}$ C の幅を持って示す。

① 細胞の特徴的な挙動と形態変化を定義し、3 つカテゴリー(a),(b),(c)に大別分類した。すなわち、(a)正常な挙動：1)伸長・収縮、扁平化、球状化を繰り返す変形、2) 1)を伴う能動的移動、3)細胞分裂、(b)損傷・死滅：4)不可逆的球状化と能動的移動の停止（ブラウン運動による揺ら

ぎ)、5)ブレブの形成、6)細胞の形態崩壊に対して、死滅様式として 7) ネクローシス、8)アポトーシス、(c)特異的挙動:9)細胞自身の能動的伸張による細胞質の自己分断、10)分裂した細胞、または、不完全分裂の細胞の再融合、11)細胞の合体・融合後の崩壊で、その温度依存性を解明した。

②基準状態の 37.0°Cでは、(a)の正常な挙動が盛んであった。細胞は、伸長や収縮、扁平な状態から球状化、また、その逆の変化を繰り返しながら間欠的に活発に動き回ると共に、細胞分裂も盛んであった。細胞の能動的な移動は、伸縮により引き起こされた。細胞分裂では、母細胞は扁平な附着状態から一旦球状化した後、体積を保存しつつ2個の娘細胞に分裂し、再び、両細胞は変形を伴いながら活発に動き回った。

③これに対して、高温ストレス状態 (40.0~47.5°C) では、基本的傾向として、温度上昇と共に、(a)の正常性(変形、移動、分裂)が減少・消滅するのに対して、逆に、(b)の損傷・死滅に関わる特性(不可逆的球状化、次いでブレブ形成を経て、形態崩壊に至る)が出現・増加した。(a)から(b)へと変化する境界温度は 42°Cで、43°Cまでの間で大きく推移し 44°C以上ではそれらが支配的になった。また、形態崩壊が出現する 42°Cでは、明瞭な細胞質の小体形成を伴うアポトーシスが起り、ネクローシスと共存した。

④細胞分裂の方(高度な細胞機能と関連する)が、移動性より温度感受性が高いと考えられる。

(2)高温ストレス下の細胞の特徴的な形態変化の定量的特性

①正常な挙動では、分裂前後で体積の総和は保存され、分裂前後の体積は温度上昇 (37.0~41.0°C) に対して増加傾向を示した。

②損傷・死滅に伴う挙動に関して、アポトーシス過程の細胞体積は、小体形成からブレブ形成、

表1 細胞の形態変化の分類とその温度依存性

		$T, ^\circ\text{C}$	37.0	40.0	41.0	42.0	43.0	44.0	45.0	47.5
正常な挙動	1) 変形(伸縮・扁平化・球状化)		■	■	■	■	■	■	■	■
	2) 移動性		■	■	■	■	■	■	■	■
	3) 分裂		■	■	■	■	■	■	■	■
損傷・死滅	4) 不可逆的球状化(能動的移動の停止)				■	■	■	■	■	■
	5) ブレブ形成				■	■	■	■	■	■
	6) 形態崩壊				■	■	■	■	■	■
	7) ・ネクローシス				■	■	■	■	■	■
	8) ・アポトーシス				■	■	■	■	■	■
特異的挙動	9) 伸張分断		■							
	10) 分裂未遂・再融合				■	■	■	■	■	■
	11) 合体・融合・崩壊							■	■	■

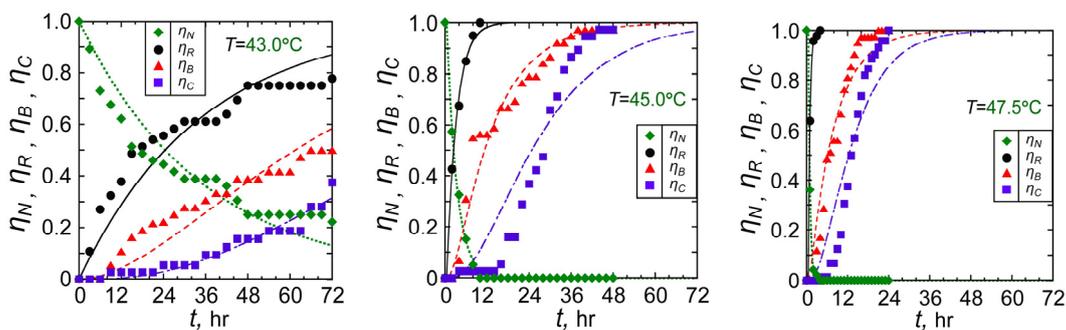


図1 細胞の種々の形態変化に対する細胞数割合の時系列変化

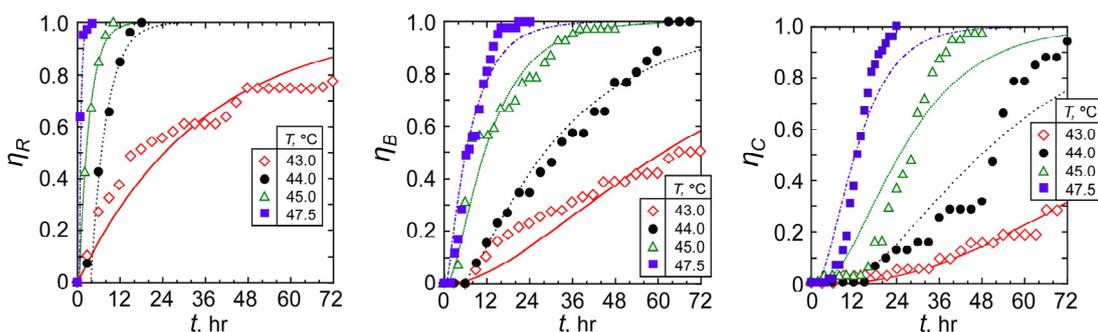


図2 細胞の各形態変化に対する細胞数割合の時系列変化の温度依存性

崩壊へと急激に減少した。ネクロシス過程の細胞体積は、ブレブ形成・成長後、崩壊へと急激に減少した。また、体積の減少過程は、ネクロシスはアポトーシスに比べ短い。また、温度が高い程、本カテゴリーの現象の生起が早期化した。

③特異的挙動に関して、各現象の前後で、体積の総和は保存された。

(3)高温ストレス下の細胞の特徴的な形態変化の統計的特性

温度上昇に対して、時間 t の経過と共に、細胞は、正常挙動（付着、移動、変形、可逆的球状化、分裂）から逸脱し、損傷・死滅へと向かう一連の不可逆的形態変化（正常(Normal)→不可逆的球状化(Rounding)→ブレブ化(Blebbing)→崩壊(Collapse)）を起こす。細胞の形態変化は速度論的に進行するため、各細胞を時系列で追跡し、当該一連の形態変化を起こす時刻を調べ、細胞数割合とし、まとめた結果の例を図1、2（実験点）に示す。ここで、正常挙動の細胞数

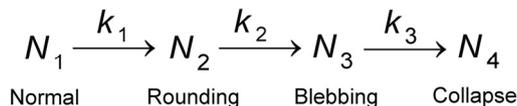


図3 細胞の形態変化の数学的モデル化に対する反応式

表2 基礎方程式と初期条件

$\frac{dN_1}{dt} = -k_1 \cdot N_1$	(1)	$N_1(\tau) = N_0$		
$\frac{dN_2}{dt} = k_1 \cdot N_1 - k_2 \cdot N_2$	(2)	$N_2(\tau) = 0$	$\frac{dN_{2,i}}{dt} = k_1 \cdot N_1$	(5) $N_{2,i}(\tau) = 0$
$\frac{dN_3}{dt} = k_2 \cdot N_2 - k_3 \cdot N_3$	(3)	$N_3(\tau) = 0$	$\frac{dN_{3,i}}{dt} = k_2 \cdot N_2$	(6) $N_{3,i}(\tau) = 0$
$\frac{dN_4}{dt} = k_3 \cdot N_3$	(4)	$N_4(\tau) = 0$	$N_{4,i} = N_4$	(7)

表3 解析解

$N_1 = N_0 \cdot \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\}$	(8)
$N_2 = N_0 \cdot \frac{k_1}{k_1 - k_2} \cdot [\exp\{-k_2 \cdot (t - \tau)\} - \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\}]$	(9)
$N_3 = N_0 \cdot k_1 \cdot k_2 \cdot \left[\frac{1}{(k_1 - k_2) \cdot (k_1 - k_3)} \cdot \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\} + \frac{1}{(k_2 - k_3) \cdot (k_2 - k_1)} \cdot \exp\{-k_2 \cdot (t - \tau)\} + \frac{1}{(k_3 - k_1) \cdot (k_3 - k_2)} \cdot \exp\{-k_3 \cdot (t - \tau)\} \right]$	(10)
$N_4 = N_0 \cdot \left[\frac{k_2 \cdot k_3}{(k_1 - k_2) \cdot (k_1 - k_3)} \cdot [1 - \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\}] + \frac{k_3 \cdot k_1}{(k_2 - k_3) \cdot (k_2 - k_1)} \cdot [1 - \exp\{-k_2 \cdot (t - \tau)\}] + \frac{k_1 \cdot k_2}{(k_3 - k_1) \cdot (k_3 - k_2)} \cdot [1 - \exp\{-k_3 \cdot (t - \tau)\}] \right]$	(11)
$N_{2,i} = N_0 \cdot [1 - \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\}]$	(12)
$N_{3,i} = N_0 \cdot \left[\frac{k_2}{k_2 - k_1} \cdot [1 - \exp\{-k_1 \cdot (t - \tau)\}] + \frac{k_1}{k_1 - k_2} \cdot [1 - \exp\{-k_2 \cdot (t - \tau)\}] \right]$	(13)

表4 細胞数割合の定義

$\eta_N \equiv N_1/N_0$	(14)	$\eta \equiv 1 - \eta_C = (N_1 + N_2 + N_3)/N_0$	(18)
$\eta_r \equiv N_2/N_0$	(15)	$\eta_R \equiv N_{2,i}/N_0$	(19)
$\eta_b \equiv N_3/N_0$	(16)	$\eta_B \equiv N_{3,i}/N_0$	(20)
$\eta_C \equiv N_4/N_0$	(17)		

割合（正常割合） η_N 、不可逆的球状化を経験した累積細胞数の割合（球状化率） η_R 、ブレブ形成を経験した累積細胞数の割合（ブレブ化率） η_B 、崩壊した細胞数の割合（崩壊率） η_C である。

①図1では、 η_R, η_B, η_C の順で、また、図2では、温度が高い程、急峻な時系列変化を示す。すなわち、図1中、 η_N は、時間経過に対して、 $1.0 \rightarrow 0$ へと漸近的に単調減少するのに対応して、 η_R は、逆に、 $0 \rightarrow 1.0$ へと漸近的に単調増加した。次に、 η_B が、最後に、 η_C が、順次、 $0 \rightarrow 1.0$ へと漸近的に単調増加した。

②温度が高い程、全ての形態変化が促進され、細胞数の増加や減少が早期化した。例えば、図1中、 $T=43.0^\circ\text{C}$ では、いずれの形態変化も、 $t=72\text{hr}$ で、全ての細胞に対しては完了せず、 $\eta_R = 1.0 - \eta_N \approx 0.8$ 、 $\eta_B \approx 0.5$ 、 $\eta_C \approx 0.3$ であるが、 $T=45.0^\circ\text{C}$ では、 $t=48\text{hr}$ 以内に、ほぼ η_R 、 η_B 、 $\eta_C \approx 1.0$ に達した。さらに、 $T=47.5^\circ\text{C}$ では、 $t=24\text{hr}$ 以内に、いずれもほぼ1.0に達した。

(4)細胞の損傷・死滅に向かう形態変化に対する反応速度論的モデル化

①モデル化と仮定

一連の形態変化の機序に立ち入ることなく、各形態状態にある細胞数の時間変化を記述する現象論的な数学モデルを提案・展開する。以下の仮定を設ける。

1)一連の形態変化は、正常細胞が、不可逆的球状化、次いでブレブ形成を経て、崩壊に至る過程である。2)その過程は、連続する反応速度論的な変化であり、一種の総括反応式により表される。3)各状態の細胞数の時間変化速度は1次反応系により表され、その反応速度定数は一定である。4)高温ストレス付与開始後の最初の形態変化（不可逆的球状化）の発生に対して、誘導期間を考慮する。

②定式化（基礎方程式、初期条件）と解析解

図3の反応式（細胞分裂が無い場合で、有る場合は別途扱った。）（ N_1 :正常細胞数、 N_2 :球状細胞数、 N_3 :ブレブを有する細胞数、 N_4 :崩壊細胞数、 k_j :状態 j から状態 $j+1$ への細胞数変化の速度定数($j=1, 2, 3$)）に対して、表2中の式(1)~(4)は、各状態の細胞数 N_j ($j=1, 2, 3, 4$)の保存式と初期条件である（ N_0 :初期細胞数、 τ :不可逆的球状化発生の誘導期間）。式(5)~(7)は、各状態を経験した細胞の累積数の保存式と初期条件である（ $N_{2,i}$:球状化を経験した細胞の累積数、 $N_{3,i}$:ブレブ化を経験した細胞の累積数、 $N_{4,i}$:崩壊細胞の累積数）。これらの連立常微分方程式から得られる解析解を表3に、初期細胞数に対する各状態の細胞数割合を表4に定義する。

③細胞数割合の時系列変化の実験結果に基づく逆問題解析

実験結果に基づく逆問題解析により、モデルパラメータ（細胞数変化の速度定数と誘導期間）（最適値）を決定すると共に、実験値に対する最適曲線（回帰曲線）を図1と2中に描いた。

④細胞数割合の実験値と計算値（最適曲線）の比較

図1、2中に示す各状態の細胞数割合の最適曲線は、分布形状の特徴を含め、全体的に実験値と概ね良く一致し、本モデル化の妥当性を示す。

(5)低温ストレス下の細胞の挙動と形態変化特性

高温ストレスの場合同様、低温ストレス下（ 30.0 と 35.0°C ）の付着培養細胞に対して、移動・形態特性をDHMにより時系列で調べ、以下の点を明らかにした。

- ①細胞の特徴的な挙動と形態変化は、a)正常な挙動とb)損傷・死滅に関わる挙動に分類された。 37.0°C ではa)正常な挙動であるが、温度低下と共に、a)正常な挙動が減少するのに対して、逆に、b)損傷・死滅の挙動が出現・増加した。
- ②b)損傷・死滅の各形態変化（丸形化、ブレブ化、崩壊）は、温度低下に対して早期化する。
- ③死滅様式として、小体を形成後、崩壊するアポトーシス、および、小体を伴わずブレブ形成を経て崩壊するネクローシスが起った。
- ④細胞分裂（高度な細胞機能と関連する挙動）は、移動性より温度感受性が高いと考えられる。
- ⑤細胞の形態崩壊は、基本的に、低温より高温条件で盛んであった。これは、低温では、単なる損傷・死滅に対する寄与に加え、保存効果もあることが一因と考えられる。
- ⑥低温条件では、損傷・死滅とは関係なく、可逆的な移動停止を示した。

(6)温度ストレスに曝された細胞の形態崩壊に対する抗酸化剤の効果

ケルセチン3グルコシド(Q3Glc)を濃度0.01 w/v%で培地に添加し、一定温度下で培養実験を行い、細胞崩壊の時系列変化を調べた。本研究の実験条件の範囲内では、Q3Glcは、高温・低温ストレスを問わず、細胞崩壊の抑制（細胞の保護）に対して大きな効果を示した。すなわち、低温条件でQ3Glc無添加の場合、細胞の崩壊率は、大体0.1~0.2であった。これに対して、Q3Glc添加の効果に関して、 4.0°C で水蒸気、 CO_2 と空気の供給が有る場合、崩壊率は7%（無添加） \rightarrow 3%（添加）に変化した。また、 4.0°C で水蒸気、 CO_2 と空気の供給が無い場合、崩壊率は96%（無添加） \rightarrow 7%（添加）に変化した。さらに、高温条件 47.5°C で水蒸気、 CO_2 と空気の供給が有る場合、100%（無添加） \rightarrow 0%（添加）に変化した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① Tokiwa T, Zimin L, Ishiguro, H, Inoue, T, Kajigaya, H, Nomura, S, Suzuki, M, and Yamakawa, T., A PalmSized Cryoprobe System with a Built-in Thermocouple and Its Application in an Animal Model

of Epilepsy, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 2019 (in print), DOI: 10.1109/TBME.2019.2901530, IEEE Engineering in Medicine and Biological Society, IEEE.

- ② 石黒 博, 一瀬達紀, 植村 真, 野澤正和, 細胞の繰り返し凍結・融解後の形態変化と生存性, 低温生物工学会誌, 査読有, 2018, 64 巻 2 号, 101-105
- ③ 石黒 博, 西村耕世, 植村 真, 野澤正和, 凍結・融解後の細胞の生存性に対する凍結様式の寄与 (冷却速度に対する生存曲線の実験結果と反応速度論的モデル), 低温生物工学会誌, 査読有, 2018, 64 巻 1 号, 29-33
- ④ ISHIGURO, H., UEMURA, M., and NAGASAKI, K., Dynamics of Morphological Changes of Adherent Cultured Cells at a Range of Low Temperatures near Physiological Temperature (Time-Lapse Imaging by Digital Holographic Microscopy), Cryobiology and Cryotechnology, 2017, Vol.63, No.1, 45-51

[学会発表] (計 12 件)

- ① Hiroshi ISHIGURO, Freezing Behavior and Post-Thaw Viability of Cells, Low Temperature Medicine, Vol. 44, No. 1, 2018, 13, Workshop: Basic Principles and Clinical Applications of cryopreservation, 第 45 回日本低温医学会総会
- ② 細胞の繰り返し凍結・融解後の形態変化と生存性, 石黒 博, 一瀬達紀, 植村 真, 野澤正和, 第 63 回 低温生物工学会セミナー及び年会講演要旨集, 2018, G3 (P1).
- ③ Palm-Sized Cryoprobe System with Built-in Thermocouple and Its Application to an Animal Model of Epilepsy, Tatsuji Tokiwa, Lev Zimin, Hiroshi Ishiguro, Takao Inoue, Hiroshi Kajigaya, Sadahiro Nomura, Michiyasu Suzuki, Takeshi Yamakawa, Low Temperature Medicine, Vol. 43, No. 1, 2017, 18, 第 44 回日本低温医学会総会
- ④ Cryoprobe System with Built-in Thermocouple for Cryosurgery, Tatsuji Tokiwa, Zimin Lev, Hiroshi Ishiguro, Takeshi Yamakawa, Proc. (Research Poster (P1)) of 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, in Jeju Island, Korea, July 11-15, 2017
- ⑤ 測温機能の向上を目指した熱電対内蔵型凍結プローブの開発, 常盤達司, ジミン レフ, 石黒 博, 山川 烈, 第 56 回日本生体医工学会, 2017, p. 276.
- ⑥ 凍結・融解後の細胞の生存性に対する凍結様式の寄与 (冷却速度に対する生存曲線の実験結果と反応速度論的モデル), 石黒 博, 西村耕世, 植村 真, 野澤正和, 第 62 回 低温生物工学会セミナー及び年会講演要旨集, 2017, G3 (P1).
- ⑦ 生理的温度近傍の低温領域における付着培養細胞の動的挙動(デジタルホログラフィー顕微鏡による計測), 石黒 博, 植村 真, 長崎高平, 第 61 回 低温生物工学会セミナー及び年会講演要旨集, 2016, 29
- ⑧ 高温ストレス条件における付着培養細胞の損傷・死滅に関わる形態変化挙動とその反応速度論的モデル, 石黒 博, 植村 真, 長崎高平, 長尾大輔, 第 53 回日本伝熱シンポジウム講演論文集, 2016, CD-ROM, H231, P6
- ⑨ 高温ストレスに曝された付着培養細胞の挙動と特徴的な形態変化(デジタルホログラフィー顕微鏡による時系列計測), 石黒 博, 植村 真, 長崎高平, 長尾大輔, 第 52 回日本伝熱シンポジウム講演論文集, 2015, CD-ROM, F111, P2
- ⑩ 高温ストレスに曝された付着培養細胞の特徴的な形態変化の定量的特性 (デジタルホログラフィー顕微鏡による時系列計測), 石黒 博, 植村 真, 長崎高平, 長尾大輔, 第 52 回日本伝熱シンポジウム講演論文集, 2015, CD-ROM, F112, P2
- ⑪ 培養細胞の移動・形態特性に対する高温ストレスの影響 (デジタルホログラフィー顕微鏡による時系列計測), 石黒 博, 長崎高平, 長尾大輔, 植村 真, 西村耕世, 第 51 回日本伝熱シンポジウム講演論文集, 2014, CD-ROM, F134, P2
- ⑫ 石黒 博, 長尾大輔, 田中祥大, 多田和樹, 植村 真, 高温ストレス下における細胞の時系列形態変化特性 (デジタルホログラフィー顕微鏡による実時間三次元的計測), 日本機械学会 2013 年度年次大会 DVD-ROM 論文集, No.13-1, 2013, J025035, P5