

令和元年6月3日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K20108

研究課題名(和文) 静水圧負荷応答に対する挑戦的探索研究

研究課題名(英文) Study on biological response to high hydrostatic pressure

研究代表者

成瀬 恵治(Naruse, Keiji)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：40252233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々のからだは常に外界から物理的刺激を受け適切に反応しているが、機械刺激である静水圧は重要であるにもかかわらず、研究の進捗が遅れていた。そこで、静水圧負荷・解析システムの構築を行うことにより細胞内情報伝達機構の解明、更には再生医療・不妊治療への応用技術の開発を目的とした。まず初めに、高圧リアルタイム計測システムの構築に成功した。その結果、歯根膜細胞、軟骨細胞、精子の圧力負荷応答の計測が可能となり、圧力感受閾値や運動能の定量を実施した。本計測システムは、生体組織における恒常性メカニズムの解明及び、生殖医療への知見創出に繋がることと今後期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

軟骨組織への圧力受容応答メカニズムの知見は、高齢者に多く見られる変形性膝関節症の研究を加速し、歯根膜組織への圧力の指標は、機械刺激下での歯周組織の恒常性や、歯周組織リモデリングのメカニズムの解明に繋がると期待される。またヒト精子の運動能の向上については、生殖医療の向上に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Mechanical stimulus is important to maintain and increase tissue and organ homeostasis. However, the effect of pressurization on tissues is poorly understood due to the lack of methods that directly observe cells under high pressure condition. Here we designed the system to apply high hydrostatic pressure to cells and directly observe cellular response to high hydrostatic pressure in a real time. This system allows us to understand the mechanism of maintenance of homeostasis and obtain new knowledge in reproductive medicine.

研究分野：生体医工学

キーワード：メカノバイオロジー メカノメディスン 静水圧 生殖医療

#### 1. 研究開始当初の背景

我々のからだは常に外界から物理的的刺激を受け適切に反応している。この過程を生物学的に解明するメカノバイオロジーは国内外での重点研究項目にも上がり、更にこの理論に基づいた病態解明・治療法を探索するメカノメディスンは益々脚光を浴びている。しかしながら、主な機械刺激である静水圧は重要であるにもかかわらず、研究の進捗が遅れている。静水圧刺激を細胞・組織に適切に負荷し、そのメカノトランスダクションを解析する技術が十分に開発されていないからであった。

#### 2. 研究の目的

研究背景を受けて、静水圧負荷・解析システムの最適化を行うことにより細胞内情報伝達機構の解明、更には再生医療・不妊治療への応用技術の開発を目的とする。

#### 3. 研究の方法

##### (1) 圧力負荷システムの構築

細胞動態及び、細胞内情報伝達系測定のために、顕微鏡下での高圧セルの設置とその周囲環境を制御するシステムの構築を実施した。

##### (2) 細胞への高圧負荷応答の解析

細胞の圧力負荷時のリアルタイム計測を実施し、圧力感受閾値の検出を実施した。

##### (3) 圧力負荷した細胞の遺伝子発現解析

圧力負荷した細胞の遺伝子発現量の解析を実施した。

##### (4) 生殖医療への展開に向けた解析

開発した高圧セルを用いて運動率、直線運動速度等の精子運動解析を実施した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 圧力負荷システムの構築とリアルタイム計測

高圧セル内に培養細胞を封入し現有の蛍光顕微鏡観察可能な系の構築に成功した。その結果、20 MPa 以上の静水圧によって軟骨細胞の縮小が観察された。しかしながら、静水圧は細胞に対して等方向に負荷されるにも関わらず、歯根膜細胞においては、短軸からの縮小が観察された。この細胞種による圧力応答性の違いは細胞骨格の局在構造に起因すると推察する。さらに歯根膜細胞の核の面積変化について解析を実施した結果、大気圧下での細胞と比較し、20 MPa、5 min の静水圧刺激では面積変化は観察されなかったが、40 MPa 以上、5 min の静水圧刺激下では核の面積が約 70%まで減少した。このように、本計測システムによって、軟骨細胞及び歯根膜細胞の圧力負荷時の細胞動態をリアルタイムに計測可能なシステム構築に成功した。

##### (2) 圧力負荷した細胞の遺伝子発現解析

圧力刺激をした軟骨細胞を 1 時間大気圧に戻した条件下で、細胞外マトリクスタンパク質の遺伝子発現量をリアルタイム PCR で解析した結果、軟骨組織を形成するコラーゲンやアグリカンの遺伝子の発現量が約 2 倍増加した。この結果は、軟骨細胞が細胞外マトリクスタンパク質の精製を増加させ、軟骨組織を維持することを示唆する。軟骨組織への圧力受容応答メカニズムの知見は、高齢者に多く見られる変形性膝関節症の研究を加速し、歯根膜組織への圧力の指標は、機械刺激下での歯周組織の恒常性や、歯周組織リモデリングのメカニズムの解明に繋がると期待される。

##### (3) 加圧処理によるヒト精子運動能の解析

構築した圧力負荷システムを用いて、40MPa の圧力刺激を施したヒト精子の運動を計測した。その結果、一時的に精子の運動速度の増加が観察された。この結果は、圧力刺激が体外受精の受精率の向上に繋がると示唆する結果である。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 15 件)

国際学会

Naruse K, “Mechanomedicine,” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) (招待講演) 2019

Naruse K, “Mechanomedicine.” Mechanobiology (招待講演) 2019

成瀬恵治 “メカノメディスン：基礎医学研究から不妊治療・再生医療への展開のアップデート” 日本生物物理学会北海道支部会講演会 (招待講演) 2019

成瀬恵治 “メカノメディスン日本学術会議「心と脳など新しい領域検討小委員会」”(招待講演) 2019

Naruse K, “Mechanomedicine and Piezobiology” The 10th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2018) (招待講演) 2018

Fujita A, Morimatsu M, Nishiyama M, Takashiba S, Naruse K, “Mechanical stress modulates the homeostasis of periodontal ligament.” ASCB 2018. 2018

Morimatsu M, Fujita A, Nishiyama M, Naruse K, “Direct observation of chondrocytes under high hydrostatic pressure.” ASCB 2018. 2018

成瀬恵治 ”Opening Remarks.” 第 56 回日本生物物理学会年会 (招待講演) 2018

森松賢順、藤田彩乃、綾 晃記、寺町一希、稲葉晃帆、成瀬恵治、西山雅祥 ”生理的高圧下でのリアルタイム細胞動態計測” 第 59 回高圧討論会 2018

Fujita A, Morimatsu M, Nishiyama M, Takashiba S, Naruse K, “Mechanical stress modulates the homeostasis of periodontal ligament.” 第 70 回日本生理学会中国四国地方会 2018

寺町一希、森松賢順、藤田彩乃、西山雅祥、成瀬恵治 “静水圧負荷による軟骨細胞の圧力受容応答メカニズムの解明” 第 41 回日本生体医工学会中国四国支部大会 2018

森松賢順、藤田彩乃、綾 晃記、西山雅祥、成瀬恵治 ”高圧下での細胞動態イメージング” 第 57 回日本生体医工学会大会 2018

藤田彩乃、森松賢順、西山雅祥、高柴正悟、成瀬恵治 “歯根膜細胞における機械刺激による恒常性への影響” 第 57 回日本生体医工学会大会 2018

山口陽平、西山雅祥、甲斐寛彬、入部玄太郎、成瀬恵治、森松賢順 “高静水圧下におけるマウス心筋細胞への影響” 第 95 回日本生理学会大会 2018

Morimatsu M, Aya K, Fujita A, Nishiyama M, Naruse K., “Direct observation of cell mechanics under high hydrostatic pressure.” ASCB2017. 2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

なし

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：藤田 彩乃

ローマ字氏名： FUJITA Ayano

研究協力者氏名：松浦 宏治

ローマ字氏名： MATSUURA Koji

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。