

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K12033

研究課題名(和文) 生体における周期的高圧負荷応答メカニズムの解明

研究課題名(英文) Visualization of cellular response to cyclic pressure stress

研究代表者

森松 賢順 (Morimatsu, Masatoshi)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：70580934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：組織や器官を構成する細胞は、ずり応力、圧力、伸展圧縮等の機械刺激を受容し、細胞自身や組織の機能維持に利用している。軟骨組織や歯周組織等は、歩行や咬合等の日常生活に伴った圧力に常にさらされているが、これらの組織に存在する細胞の圧力に対する受容応答メカニズムの解明には未だ研究の余地があった。そこで本研究計画では、周期的高圧負荷システムの開発および、開発装置を用いた計測とその結果の解析を実施した。その結果、軟骨細胞には圧力感受閾値が存在し、その閾値を超えた場合、シグナル伝達経路を活性化させ細胞を維持する機能を軟骨細胞が有していることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会における生活の質(QOL)の維持や向上は必須であるが、歩行や咀嚼等の生命活動に伴ったずり応力、圧力、伸展圧縮等の様々な機械刺激が生体組織に必ず生じるため、機械刺激を考慮した細胞や器官の受容応答メカニズムの解明の遂行なくして、QOLの向上に向けた根本的な改善に繋がらない。本研究では、細胞の圧力受容応答メカニズムに迫る研究であった。また、本研究成果は、軟骨組織のリモデリング機構の解明に繋がる知見であり、今後の治療応用への発展に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Activities of daily living such as walking and sitting pressurize articular cartilage. However, the effect of pressurization on chondrocytes is poorly understood due to the lack of methods that directly observe cells under high pressure conditions. Here we developed high hydrostatic system to observe human cell dynamics under high pressure condition. We also found high hydrostatic pressure regulates signaling pathway in chondrocyte. Our results suggest the model of the homeostasis of articular cartilage under high pressure conditions.

研究分野：生物物理

キーワード：静水圧 周期的圧力 メカノバイオロジー 機械刺激

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会における生活の質(QOL)の維持や向上は必須であるが、歩行や咀嚼等の生命活動に伴ったすり応力、圧力、伸展圧縮等の様々な機械刺激が生体組織に必ず生じるため、機械刺激を考慮した細胞や器官の受容応答メカニズムの解明の遂行なくして、QOLの向上に向けた根本的な改善に繋がらない。さらに、生体内の細胞に負荷される機械刺激を定量的に測定・制御する技術が不可欠であるが、従来の生物学的手法に比べて、極めて難しい技術を要し、その後れが本領域の研究推進への大きな障壁として立ちはだかっていた。特に機械刺激の一つである、圧力刺激に関しては、細胞または分子レベルでの圧力に対する受容応答メカニズムに関する研究は非常に乏しく、その大きな理由の一つが、圧力や圧力に反応した分子挙動、細胞動態の定量的困難さに起因していた。

2. 研究の目的

歩行、咀嚼といった日常行為は、高齢化社会での生活水準(QOL)の維持には必須であるが、歩行による軟骨組織への影響や、咬合による歯周組織への影響を解明には未だ研究の余地があった。歩行や咀嚼によって生体組織は常に数~数十 MPa の圧力を受容するが、高圧下での細胞、および分子レベルの計測方法が極端に欠如しており、圧力による生体への影響に関する研究の進捗が遅れていた。そこで本研究では、周期的高圧力負荷システムの開発および、細胞内情報伝達系の計測・解析をすることにより、細胞内圧力受容応答機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 周期的な静水圧負荷装置の構築

歩行時、咀嚼時には、生体組織に定常的な圧力ではなく、周期的な圧力が負荷されることが多い。そこで、0.1~1 Hz程度の周期的高圧力負荷システムの構築をした。サンプル設置容器への流入量と圧力閾値を制御し、様々な周期的高圧負荷パターンの作成を実施した。このシステムにより、歩行や咀嚼のin vitro再構成系の実現を可能にする。

(2) 顕微鏡下での周期的圧力負荷下細胞応答観察システム

周期的な圧力負荷時での細胞動態や細胞内の分子の可視化が細胞の圧力受容応答メカニズムの解明には非常に重要なツールとなる。そこで、前述の周期的圧力負荷システムを装着した顕微鏡システムを構築した。

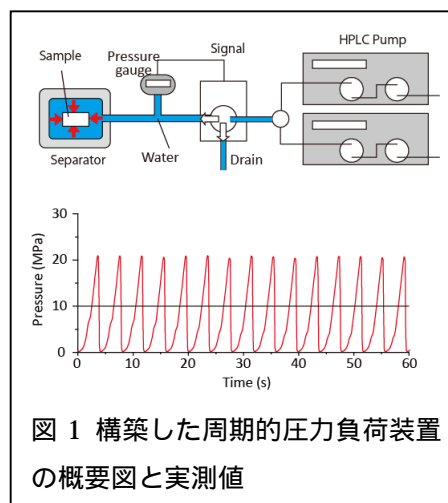
(3) 開発した装置を用いた計測とモデルの構築

構築したシステムを用いて細胞への圧力負荷後、遺伝子の網羅的解析を実施した。また、改良した細胞観察システムにて、細胞動態の計測並びに解析を実施した。さらに、これらの結果を基に細胞の圧力受容応答のモデルを提案した。

4. 研究成果

(1) 周期的な静水圧負荷装置の構築と解析結果

HPLCポンプと自動切換バルブを組み合わせ、流量と切り替えパターンを制御し、ピーク値が0~20 MPa、周波数0.1~1 Hz程度の周期的高圧力負荷システムを構築した(図1)。この装置を用いてヒト軟骨細胞へ圧力負荷し、遺伝子発現量の変化を定量的に測定した結果、0.25 Hzで10 MPaをピーク値とした周期的圧刺激負荷条件下では、798種類の遺伝子発現量の変化が観察された。特に、細胞外環境に関するタンパク質、細胞膜に関連するタンパク質の遺伝子発現量の増減が観察された。歩行等の日常生活における生体組織における圧力刺激の影響を調べる上で非常に重要な知見を示唆する結果であった。さらに、軟骨細胞のモデルとして使用される軟骨肉腫由来細胞と正常組織由来細胞では、遺伝子発現量の変化に反応する圧力閾値が異なることが分かった。

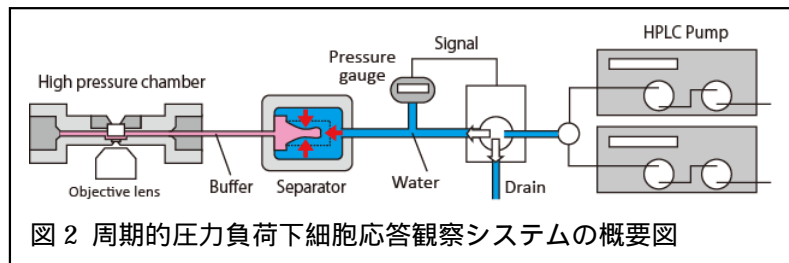


(2) 細胞応答観察システムの構築とモデルの提案

さらに開発したシステムを顕微鏡上に構築し、周期的圧力下での細胞の長期観察に成功した(図

2)。20 MPa の定常圧力負荷条件下では、細胞は10分程度で収縮するが、周期的圧力負荷条件下では、収縮現象が観察されなかった。これは、圧力負荷パターンに依存した圧力感受機構が細胞に存在することを示唆した。さらに、20 MPa

の圧力において、細胞の増殖、分化、および幅広い生物システムの発生の制御に関わるシグナル伝達経路において重要な役割を担っていることが、細胞応答観察システムの計測によって分かった。これらの結果は、軟骨細胞には圧力感受閾値(20 MPa)が存在し、さらに、その閾値を超えた場合、シグナル伝達経路を活性化させ細胞を維持する機能を軟骨細胞が有することを示唆した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Watanabe Naoshi, Morimatsu Masatoshi, Fujita Ayano, Teranishi Mika, Sudevan Surabhi, Watanabe Masaru, Iwasa Hiroaki, Hata Yutaka, Kagi Hiroyuki, Nishiyama Masayoshi, Naruse Keiji, Higashitani Atsushi	4. 巻 523
2. 論文標題 Increased hydrostatic pressure induces nuclear translocation of DAF-16/FOXO in C.elegans	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 853 ~ 858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.01.047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 6件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 森松賢順, 藤田彩乃, 寺町一希, 成瀬恵治
2. 発表標題 高圧下での細胞動態イメージング
3. 学会等名 第59回 日本生体医工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Masayoshi Nishiyama, Keiji Naruse
2. 発表標題 Cell dynamics under high hydrostatic pressure conditions
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Ayano Fujita, Masayoshi Nishiyama, Keiji Naruse
2. 発表標題 HIGH HYDROSTATIC PRESSURE INDUCES NUCLEAR TRANSLOCATION OF FOXO3
3. 学会等名 Biophysical Society Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森松賢順, 藤田彩乃, 綾晃記, 寺町一希, 稲葉晃帆, 西山雅祥, 成瀬恵治
2. 発表標題 生理的压力下での細胞動態計測
3. 学会等名 第58回 日本生体医工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Keiji Naruse
2. 発表標題 Direct observation of cell mechanics under high hydrostatic pressure
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Masayoshi Nishiyama, Keiji Naruse
2. 発表標題 Direct observation of cell mechanics under the physiological high hydrostatic pressure condition
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Kazuki Teramachi, Masayoshi Nishiyama, Keiji Naruse
2. 発表標題 CHONDROCYTE DYNAMICS UNDER HIGH HYDROSTATIC PRESSURE
3. 学会等名 Biophysical Society Annual Meeting 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森松 賢順, 藤田 彩乃, 綾 晃記, 西山 雅祥, 成瀬 恵治
2. 発表標題 高圧下での細胞動態イメージング
3. 学会等名 第57回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu
2. 発表標題 Mechanical Regulation of Cellular Homeostasis
3. 学会等名 iCeMS Mini-Symposium on Mechanobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 生理的高圧下でのリアルタイム細胞動態計測
3. 学会等名 第59回高圧討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masatoshi Morimatsu, Ayano Fujita, Masayoshi Nishiyama, Keiji Naruse
2. 発表標題 Direct observation of chondrocytes under high hydrostatic pressure
3. 学会等名 2018 ASCB EMBO Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------