

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2020～2022
課題番号：20K21896
研究課題名（和文）微小重力下では細胞はどのような挙動をするのか？

研究課題名（英文）How do cells behave in microgravity?

研究代表者

成瀬 恵治（Naruse, Keiji）

岡山大学・医歯薬学域・教授

研究者番号：40252233

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：「微小重力下ではどのような細胞挙動をするのか？」と疑問に感じ、リアルタイム測定系クリノスタット搭載型蛍光顕微鏡の構築を本研究の目的とし研究に着手した。まず、リアルタイム観測が可能な蛍光顕微鏡搭載型疑似微小重力装置搭とクリノスタット回転培養可能な特殊チャンバーの開発を行った。この新たな蛍光顕微鏡を用いて細胞核を染色し、微小重力下でリアルタイム測定を行った。移動中にビントがずれるという課題点は残ったが、解析可能データ取得に成功した。核の挙動解析より、微小重力下での有意な移動や変形は確認できなかった。細胞制御機能を有する核や細胞小器官への微重量が及ぼす影響を解明するためには、今後の詳細な研究が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球上とは異なる宇宙空間においては様々な身体変化が報告されているが、その分子メカニズムに関して多く研究されているにも関わらず、肝心の重力センシングメカニズムに関しては不明な点が多い。我々は、重力感知機構に関する研究より、過重力時に密度の大きい核・ミトコンドリアと細胞骨格との相互作用が重要であることを明らかにしてきたが、微小重力下でのリアルタイム観察に関する科学的信用に足る研究は皆無であった。そこで、微小重力下での細胞挙動のリアルタイム観察が可能な蛍光顕微鏡搭載型クリノスタットの開発を行った。宇宙病発症メカニズムの解明という観点から微小重力下での挙動観測は、今後の研究に新たな可能性を切り開いた。

研究成果の概要（英文）："What kind of cell behavior do cells exhibit under microgravity?" We started this research with the aim of constructing a fluorescence microscope equipped with a clinostat for real-time measurement of cell behavior under microgravity. First, we developed a fluorescence microscope-mounted quasi-microgravity device that enables real-time observation and a special chamber that enables clinostat rotation and culture. Using this new fluorescence microscope, cell nuclei were stained and measured in real time under microgravity. Although the focus shift during movement remained a problem, we succeeded in acquiring analyzable data. Analysis of nuclear behavior showed no significant migration or deformation under microgravity. Further detailed studies are expected to elucidate the effects of microgravity on nuclei and cell organelles with cellular regulatory functions.

研究分野：生理学

キーワード：微小重力 宇宙 メカノバイオロジー メカノメディスン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の体は、常に外界からの物理学的刺激を受け、その刺激に対し適切に応答している。この過程を生物学的に解明するメカノバイオロジーは JST・AMED での重点研究項目に上がり、注目されている領域である。応募者は、このメカノバイオロジー理論に基づいた病態解明・治療法を探求するメカノメディスンの第一人者で、2次元・3次元培養における伸展細胞培養システムの実用化や生殖医療分野での斜頸体外培養システムの開発に成功してきた。

現在、アルテミス計画など今後の宇宙開発が活発化し地球外活動が現実化しつつある。しかし、地球外活動が私たち人類に及ぼす詳細な影響に関しては、不明な点が多いのが現状である。

2. 研究の目的

近年の宇宙開発で宇宙空間での生活が視野に入ってきたが、宇宙空間では宇宙線暴露・微小重量といった地球上とは異なる環境下での生活であり、様々な身体的変化が報告されている。そして、その分子メカニズムに関して多くの研究がされてきているにもかかわらず、肝心の重力センシングメカニズムに関しては不明な点が多い。

これまでの研究により応募者は、過重力時の細胞構造、特に高密度の核・ミトコンドリアと細胞骨格との相互作用が重要であることを示した。それでは「微重力下ではどのような細胞挙動をするのか？」と疑問に感じ、過重力とは反対の微重力下での細胞挙動のリアルタイム観察が喫緊の課題であることを痛感した。現在地球上において擬似微小重力環境を提供するクリノスタットにて細胞挙動(細胞運動・細胞形態変化・細胞内情報伝達等)を測定する試みが行われているが、リアルタイムでの細胞挙動を見ることは現在の技術では困難である。そこで、微小重力下では細胞はどのような挙動をするのかを観察したいという強いモチベーションの下、リアルタイム測定系蛍光顕微鏡搭載型クリノスタットの構築を本研究の目的とし研究に着手した。

3. 研究の方法

(1) 疑似微小重力装置(クリノスタット)搭載型蛍光顕微鏡システムの開発

クリノスタット：北川製作所 微小重力環境細胞培養装置 (CL-1000) を使用した。

蛍光顕微鏡の開発：3D-CAD にて設計したパーツを三次元光造形装置にてプロトタイプング後、アルミ材で最終成形を行いカメラ (CS2100-CM USB:THORLABS) を使用しリアルタイム測定可能な独自の蛍光顕微鏡を作製した。

特殊チャンバーの開発：クリノスタット回転にて微小重力環境をも模擬しているため、通常細胞観察で用いるシャーレなどでは培養液が飛散する。そこで、ガス透過性の高いシリコン樹脂 (PDMS : polydimethylsiloxane) を用いた密閉系のチャンバーを開発した。

ただし、測定面に関してはカバーガラスを用いることで通常培養と相違ない条件で、かつ詳細な構造測定を可能とした。

(2) 細胞形態変化の評価

新たに開発した微小重力装置搭載型蛍光顕微鏡システムを用いて、微小重力下のリアルタイム測定を行った。測定には、密閉型チャンバーに播種し、かつ核染色を行ったマウス骨格筋由来の C2C12 細胞を用いた。静置・微重力・静置での状態をライブ画像にて習得し、そこから、必要なタイミングの画像を抽出した後、抽出画像を用いて解析し細胞形態変化を評価した。

4. 研究成果

(1) 疑似微小重力装置搭載型蛍光顕微鏡システムの開発 (図1)

新たに疑似微小重力装置搭載型蛍光顕微鏡システムを開発し、微小重力下での細胞内挙動のリアルタイム測定が可能となった。

顕微鏡を三次元回転し重力を均等に分散させ模擬的に微小重力を作る

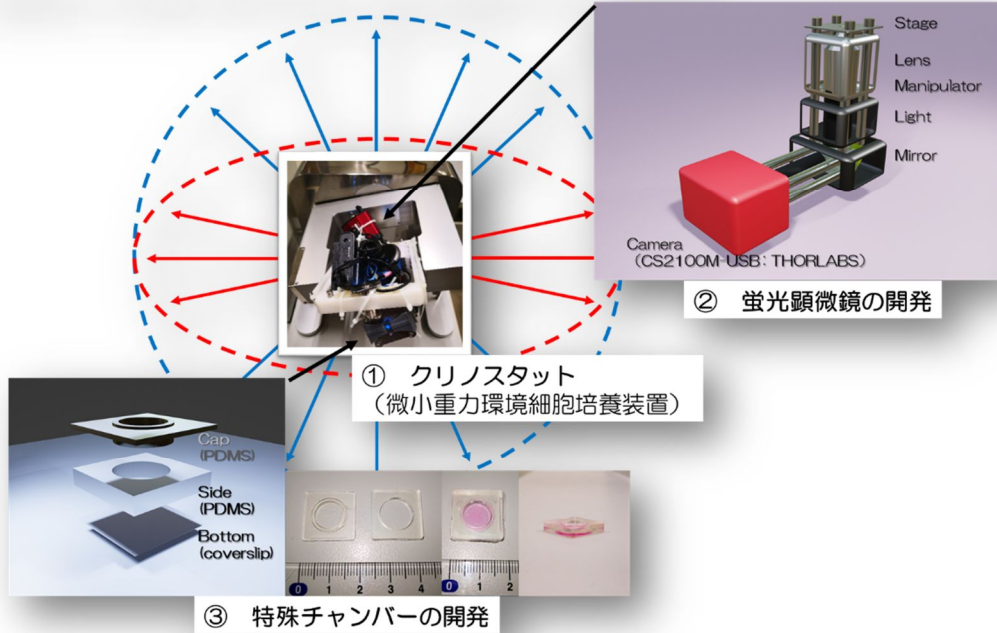


図1：疑似微小重力装置搭載型顕微鏡システム

(2) 密閉型特殊チャンバーを用いた細胞培養

PDMS を用いた密閉型のチャンバー内で細胞培養が可能となった。また、標識用マーカーである蛍光ビーズを固相化した上に細胞を播種し詳細な位置確認を可能とした (図2：矢印)。

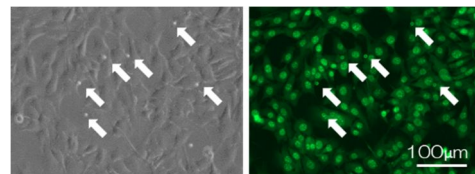


図2：密閉チャンバー内培養細胞

(3) 細胞形態変化の評価

負荷前・微小重力負荷 10 秒後と 1 分後の抽出した画像を疑似カラー化し核を確認したが、微小重力に対する核の移動や変形等の明瞭な変化は確認できなかった。しかし、細胞制御機能を有する

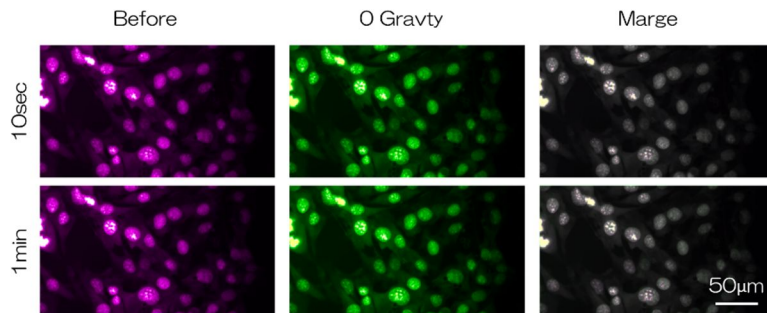


図3：密閉チャンバー内培養細胞

る核や細胞内小器官への微小重力が及ぼす影響を解明するためには、今後の詳細な研究が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Liang Y, Wang M, Liu Y, Wang C, Takahashi K, Naruse K	4. 巻 9
2. 論文標題 Meta-analysis-assisted detection of gravity-sensitive genes in human vascular endothelial cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Cell Dev Biol	6. 最初と最後の頁 689662
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Takahashi Ken, Takahashi Hideyuki, Furuichi Takuya, Toyota Masatsugu, Furutani-Seiki Makoto, Kobayashi Takeshi, Watanabe-Takano Haruko, Shinohara Masahiro, Numaga-Tomita Takuro, Sakaue-Sawano Asako, Miyawaki Atsushi, Naruse Keiji	4. 巻 7
2. 論文標題 Gravity sensing in plant and animal cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 npj Microgravity	6. 最初と最後の頁 2~12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41526-020-00130-8	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Tran Manh Tien, Okusha Yuka, Feng Yunxia, Morimatsu Masatoshi, Wei Penggong, Sogawa Chiharu, Eguchi Takanori, Kadowaki Tomoko, Sakai Eiko, Okamura Hirohiko, Naruse Keiji, Tsukuba Takayuki, Okamoto Kuniaki	4. 巻 21
2. 論文標題 The Inhibitory Role of Rab11b in Osteoclastogenesis through Triggering Lysosome-Induced Degradation of c-Fms and RANK Surface Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9352~9352
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21249352	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 -
1. 著者名 Kataoka Kensuke, Kurimoto Ryota, Tsutsumi Hiroki, Chiba Tomoki, Kato Tomomi, Shishido Kana, Kato Mariko, Ito Yoshiaki, Cho Yuichiro, Hoshi Osamu, Mimata Ayako, Sakamaki Yuriko, Nakamichi Ryo, Lotz Martin K., Naruse Keiji, Asahara Hiroshi	4. 巻 8
2. 論文標題 In vitro Neo-Genesis of Tendon/Ligament-Like Tissue by Combination of Mohawk and a Three-Dimensional Cyclic Mechanical Stretch Culture System	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 307~321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2020.00307	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 -

1. 著者名 Saaya Hayasaki, Yasuomi Sasai, Masaki Imayasu, Miho Shimizu, Soichiro Fujiki, Keiji Naruse, Toshiyuki Watanabe and Yoriko Atomi	4. 巻 59
2. 論文標題 Molecular chaperone B-crystallin regulates the dynamic stability of focal adhesion under mechanical stress conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics (JJAP)	6. 最初と最後の頁 SDDE03-1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

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12件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Liang Y, Wang M, Liu Y, Wang C, Takahashi K, Naruse K
2. 発表標題 Meta-analysis of Microarray Data Revealed a New Candidate Gene in Endothelial Cells that Responds to Gravity.
3. 学会等名 The 3rd International Yangtze River Delta Symposium on Mechanobiology & the 9th Chinese National Symposium of Medical Biophysics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成瀬患治
2. 発表標題 メカノメディスン
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成瀬恵治
2. 発表標題 メカノメディスン
3. 学会等名 生理学研究所 : 細胞の局所コミュニティ研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成瀬恵治
2. 発表標題 メカノメディスン—メカノバイオロジーから医療へ—
3. 学会等名 Liaison Tsunaguミーティング (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成瀬恵治
2. 発表標題 メカノメディスン：メカノバイオロジーと宇宙医学
3. 学会等名 第67回日本宇宙航空環境医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成瀬恵治
2. 発表標題 メカノメディスン
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 成瀬恵治
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

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
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamaguchi Y, Nishiyama M, Kai H, Iribe G, Naruse K, Morimatsu M
2. 発表標題 High Hydrostatic Pressure induces Cardiomyocyte Contraction
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多田千香、成瀬恵治、森松賢順
2. 発表標題 過重力及び微小重力実験用細胞培養チャンバーの開発
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 成瀬恵治
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 劉 云、王 夢雪、成瀬 恵治、高橋 賢
2. 発表標題 Optimization of caidiac differentiation of human pluripotent stem cells
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2021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