S02101

培養家兎胸大動脈の中膜平滑筋細胞の核とアクチン形態に対する 繰返引張負荷の影響

Effects of cyclic stretch on morphology of nucleus and actin filament of smooth muscle cells in cultured rabbit thoracic aortas

○正 王 軍鋒^{*1}, 前田 英次郎^{*1}, 松本 健郎^{*1}Junfeng WANG^{*1}, Eijiro MAEDA^{*1}, Takeo MATSUMOTO^{*1}^{*1} 名古屋大学 Nagoya University**Key Words** : Aorta, Smooth muscle cell, Nucleus, Rabbit, Cyclic stretch

血管中膜平滑筋細胞は血管の収縮と弛緩を担う重要な要素である。この細胞は自ら力を発生するとともに、自らの置かれている周囲の力学環境に応じて血管壁を作り変えることが知られている。例えば、高血圧に曝されたラットの血管は正常血圧のものとは比べて、血管内径は殆ど変わらないが、血管壁が厚くなることが知られている。これは壁面に作用する流体せん断応力と血管壁円周方向応力を一定に保つように血管が応答した結果であると考えられる⁽¹⁾。また、平滑筋細胞は高血圧により肥大すると共に収縮力が減少することも知られている。核形態は細胞機能を反映する可能性が指摘されており、またアクチンフィラメント (AF) は細胞収縮と密接な関係がある。従って、平滑筋細胞核や AF の形態は力学環境に応じて変化する可能性がある。このような変化を調べるため、家兎胸大動脈壁を無負荷と繰返引張負荷状態で培養し、核と AF の形態変化を観察した。日本白色家兎 (3.0-3.5 kg, オス) をペントバルビタールナトリウムで屠殺後、胸大動脈を摘出した。摘出した血管を軸方向長さ約 5 mm に切出し、10%ウシ胎児血清と 1%ペニシリン-ストレプトマイシンを含有する DMEM 培地で無負荷と繰返引張負荷状態で 3 または 6 日間培養した (37°C, 5% CO₂+95%air)。無負荷群は DMEM 培地を満たしたシャーレに試料を入れ、インキュベータ内で静置培養した。繰返引張負荷群は血管内腔に挿入した直径 1 mm の針 2 本で試料円周方向に 10%, 1 Hz の繰返引張を加えつつ培養した。培養期間終了後、これらの試料を 10%中性緩衝ホルマリンで 1 晩固定し、0.5% Triton X-100 に 1 時間浸漬した。その後、試料を寒天包埋して厚み 200 μm の輪切試料を得た。核と AF はそれぞれ Hoechst33342 と Alexa Fluor546 Phalloidin を用いて染色し、共焦点顕微鏡 Zeiss LSM880 で観察した。画像解析ソフト Imaris と ImageJ を用いて細胞核の体積と細胞内 AF の輝度変化を解析した。摘出直後の control 群と比べて、3 日間培養後、核体積は無負荷群で約 5 割減ったのに対し、繰返引張負荷群では約 1 割の減少に留まった。AF の輝度値は、無負荷群で約 2 割減ったのに対し、繰返引張負荷群では逆に約 7 割増加した。6 日間培養後、核体積の更なる変化は見られなかったが、アクチンの輝度値は両群とも減少し、引張負荷群は control 群と同程度に戻った。3 日間後のアクチン輝度の増加原因は不明であるが、繰返引張という力学刺激により、核の体積や細胞内 AF の量が維持されることが判った。

謝 辞: 本研究の一部は、科研費 (18H03752, 19K22960), ならびに AMED-CREST (JP20gm0810005) の支援に依った。ここに記して謝意を表する。

Fig. 1 Typical fluorescent images of actin filaments (red) and cell nuclei (green) of rabbit thoracic aortas cultured in various conditions. Bar = 50 μm.

文 献

- (1) Matsumoto, T., Hayashi, K., "Mechanical and Dimensional Adaptation of Rat Aorta to Hypertension", *J Biomech Eng*, Vol. 116 (1994), pp. 278-283.