S02104

大動脈組織内平滑筋の生細胞を対象とした引張負荷時における核変形解析

Analysis of nuclear deformation of live smooth muscle cells in aortic tissues under a tensile stretch

○学 西村 侑也^{*1}, 氏原 嘉洋^{*1}, 中村 匡徳^{*1}, 杉田 修啓^{*1}Yuya NISHIMURA^{*1}, Yoshihiro UJIHARA^{*1}, Masanori NAKAMURA^{*1} and Shukei SUGITA^{*1}^{*1} 名古屋工業大学 Nagoya Institute of Technology**Key Words**: 高血圧, メカノバイオロジー, 共焦点顕微鏡, 組織内細胞

●緒言

高血圧では血管壁中膜の平滑筋細胞 (SMC) が肥大する⁽¹⁾が, 高血圧と SMC 肥大の関係の詳細は不明である. 高血圧では血管周方向引張が増加し, SMC に外力として加わる. 外力は細胞骨格を介して細胞核に伝わり⁽²⁾, 外力負荷でクロマチンの変形⁽³⁾や細胞肥大がみられる⁽⁴⁾. よって, ひずみ増加が細胞核に伝わり細胞が肥大したことが考えられる. ただし, 以上は培養細胞での報告が主であるため, 我々は, 大動脈組織引張時にも SMC の核ひずみが増加するかを調べてきた. 結果, 核ひずみは, 拡張期圧から収縮期圧の組織ひずみで増加した一方, 高血圧範囲の組織ひずみでは増加が認められなかった⁽⁵⁾. しかし, この SMC は死細胞だったため, 細胞が周囲から剥離し, 外力が伝わらずに核ひずみが増加しなかった可能性があった. そこで, 本研究では細胞の生死状態による核ひずみへの影響を調べた. また, 高いひずみで SMC が剥離し, 核ひずみが増加しなかった可能性も検証した.

●実験方法

ブタ大動脈を周方向 10 mm, 軸方向 2 mm に切り出し, 核を Hoechst33342 で, さらに死細胞の核を Ethidium Homodimer III で染めた. この試料を自作の引張試験装置で引張り, 組織の公称ひずみ $\varepsilon=0\%$ から収縮期圧相当の $\varepsilon=50\%$ まで 5 サイクル preconditioning をした. 共焦点レーザ走査型顕微鏡下で, Ethidium Homodimer III で非染色の生細胞を選び, $\varepsilon=0, 25, 50, 75\%$ で半径方向に $0.4\ \mu\text{m}$ 間隔の断層像を撮り, Hoechst33342 染色の細胞核 3 次元像を得た. 半径方向の最大輝度による 2 次元投影像から任意 4 点を選び, 4 角形アイソパラメトリック要素を作製して細胞核の周方向垂直ひずみ $\varepsilon_{\theta\theta}$ を求めた. また, $\varepsilon=75\%$ まで引張, $\varepsilon=0\%$ まで除荷, 再度 $\varepsilon=50\%$ まで引張を順次行い, 除荷前後の $\varepsilon=50\%$ の $\varepsilon_{\theta\theta}$ を比べた. 検定には Paired t-test を用い, 有意水準は $p=0.05$ とした.

●結果と考察

核ひずみは, $\varepsilon=25\%$ で $\varepsilon_{\theta\theta}=0.04\pm0.09$, $\varepsilon=50\%$ で $\varepsilon_{\theta\theta}=0.13\pm0.06$, $\varepsilon=75\%$ で $\varepsilon_{\theta\theta}=0.16\pm0.1$ であり, 拡張期圧 ($\varepsilon=25\%$) より収縮期圧相当 ($\varepsilon=50\%$) で $\varepsilon_{\theta\theta}$ が有意に増加した. 高血圧範囲では, $\varepsilon=50\%$ に比べ $\varepsilon=75\%$ では $\varepsilon_{\theta\theta}$ の平均値がやや増加したものの有意差はなかった. この生細胞での結果は死細胞⁽⁵⁾と同様であるため, 細胞の生死状態は, 高血圧範囲で核ひずみが増加しなかった要因ではないと考えられた. さらに, $\varepsilon=50\%$ における核ひずみは, 除荷前 $\varepsilon_{\theta\theta}=0.08\pm0.05$, 除荷後 $\varepsilon_{\theta\theta}=0.07\pm0.05$ で, 除荷前後に有意差がなく同様な値であった. よって, 組織ひずみ増加時に核ひずみが増加しない要因は, 細胞と周囲組織の剥離ではないとわかった. 細胞骨格による核短軸方向への圧縮に起因する長軸方向の核ひずみは, 細胞伸びに伴い一定値に収束する⁽⁶⁾. 高血圧範囲で核ひずみが増加しないのは, この細胞骨格による圧縮が主である可能性を, 今後検証する予定である.

●謝辞本研究の一部は, 日本医療研究開発機構医工連携事業化推進事業 (JP20gm0810005) の援助に依った.

文 献

- (1) Matsumoto, T et al., *J Biomech Eng*, 1996, 118(1), 62-73
- (2) Tajik, A et al., *Nat Mater*, 2016, 15, 1287-1296
- (3) Wang, N and Suo, Z, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328(4), 1133-1138
- (4) Richard, MN et al., *J Biol Chem*, 2007, 282(32), 23081-23088
- (5) 上間大輝, 名古屋工業大学修士論文, 2019
- (6) Versaavel, M et al., *Nat Commun*, 2012, 14(3), 671