

研究成果報告書の概要

講座等名	薬理学講座	事業推進者名	中邨 智之
所属部門	代謝部門		
分担研究課題	細胞外マトリックス線維形成の加齢変化に関する研究		
キーワード	弾性繊維、ミクロフィブリル、LTBP		
講座内の本プロジェクト参加研究者数			4名
研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割）			
<p>中邨智之（教授）プロジェクトの統括</p> <p>赤間智也（准教授）大学院生の指導、遺伝子変異マウスの作成</p> <p>石戸隆裕（大学院生）誘導型 Fibulin-5 ノックアウトマウスの作成と解析</p> <p>村部知里（技師）実験補助</p>			
研究成果の概要（平成 29・30 年度の研究成果について）			
<p>肺や大動脈といった伸び縮みする組織の弾性は弾性線維と呼ばれる特殊な細胞外マトリックスの線維によって構築されている。本研究では生体内において弾性線維構築に重要な役割を担う細胞外マトリックスタンパク質 Fibulin-5 および LTBP-4 の機能を明らかにするべく、その遺伝子改変マウスを作成して表現型の解析を行っている。</p> <p>これまでに遺伝子改変マウスを作製しその表現型を調べることで弾性線維形成に必須なタンパク質を特定してきたが、その詳細な役割を解析したり、弾性線維形成に充分であるタンパク質群を特定するには in vitro での実験系が必要である。本研究室では完全な in vitro の系ではないものの、培養細胞を用いた実験系を使って細胞における遺伝子発現の抑制（遺伝子改変マウス由来 MEF あるいは siRNA）および組み換え体精製タンパク質の添加を行うことで、細胞表面での弾性線維形成に必要なタンパク質の同定とその弾性線維形成における機能を明らかにしてきた。細胞表面に形成された弾性線維はその太さや線維形成の形態を観察することで評価してきたが、その力学的な評価はこれまで行われていなかった。そこで新たに、弾性線維を形成させた培養細胞シートの弾性を直接測定することで弾性線維の力学的特徴を調べることを目的とし、その測定システムの構築を行った。</p> <p>影島賢巳大阪電気通信大教授との共同研究で、培養皿の中の緩衝液中に固定した細胞シートの上に小さな鉄球を置き、細胞シートの下から電磁石で引きつけたときの鉄球の移動距離を調べることで細胞シートの弾性を測定する装置を開発した。この時、培養皿から細胞シートを回収して装置に固定する器具を、本学内に設置された 3D プリンタを使って改良することで、測定の効率を飛躍的に上昇させることに成功した。このシステムを用いて、野生型マウス由来の MEF から通常の培養方法で作製した弾性線維を有する細胞シートと、培地に弾性線維形成阻害剤を添加することで弾性線維のない細胞シートを作製しそれぞれの力学的特性を比較したところ、弾性線維形成を抑制した細胞シートでは弾性が非常に弱くなっていて、高磁力で鉄球を引きつけた時のシートの伸びが弾性線維を持つ細胞シートに比較して大きくなることがわかった。また弾性線維形成に必須なタンパク質である Fibulin-5 や LTBP-4 の遺伝子欠損マウスから MEF を調製し、この細胞シートの力学的特性を調べたところ、野生型 MEF から作製した細胞シートに比べて非常に硬く、シートの伸びが悪くなっていることが明らかとなった。これらのデータは現在集計中であり、近日中に論文化を行う予定である。</p> <p>本研究はこれまでに例のない、培養細胞上の弾性線維の力学的特徴を直接計測した初めての研究であり、弾性線維の形成およびその成熟化の研究において新たな次元の評価方法の開発に成功したといえる。</p>			