

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：メカノバイオロジー機構の解明と医療応用に向けた基盤技術の創出
2. 研究開発課題名：血管疾患発生機構の解明に向けた組織・細胞・核のメカノトランスダクションの統合解析技術の開発
3. 研究開発代表者： 松本 健郎 (名古屋工業大学)
4. 研究開発の成果

核内クロマチン動態を詳しく観察できるように現有する共焦点顕微鏡の高解像度化を検討した。超解像イメージング装置のデモを依頼したが、性能が十分ではなかった。しかし、現有装置の計測条件最適化で相当程度良好な像が得られることが判ったので、現有装置で対応しつつ、新たな方策の検討を続けることとした。また、現有する薄切組織用引張試験機の顕微鏡ステージを電動化し、試料の移動時に試料が振動しないようにした。また、組織内微視的残留応力ならびにスティフネス計測のための押込試験装置の諸元の設計を進めた (松本)。

細胞外マトリックスの明瞭な観察のため 2 光子顕微鏡上で薄切組織を引張試験する装置を作製、厚さ 300 μm のブタ胸大動脈の変形を観察した。引張に伴うエラスチン・コラーゲン線維の変形が明瞭に得られ、両線維の動きが異なることが判明した。現状では 1 試料のデータ取得に数時間必要なため、測定の高速度が課題である。また、組織内の細胞膜、ミトコンドリア、アクチンフィラメント、DNA 等を染色した組織の観察条件の確立を進めた。さらに、組織変形時の細胞骨格の張力変化の計測のため、以前確立した培養細胞の細胞膜をはがした状態で計測する実験の再現を進めた (杉田)。

血管壁内構造と力学環境を考慮しつつ、細胞組織の 3 次元構造を詳細に観察するための実験系を構築した。独自の配列技術でシリコーン弾性膜上に微細な溝構造を持ったコラーゲン基質を作製、この溝に細胞を配列させ組織化させることに成功した。次に血管壁内の動的力学環境を考慮し、拍動と血圧変動を模擬して、作製した組織に引張ひずみを負荷しながら観察する実験系を構築した。平坦なコラーゲン上では引張に直交する方向に細胞配向するが、上記組織の場合は、ひずみ方向を変化させても、配列状態が維持されることが分かった。現在、焦点位置の自動制御法を検討中である。また、この細胞培養系で平滑筋細胞組織が発生する張力のその場観察系の確立に向けた基礎検討を行った (長山)。

既存の 3 次元内部構造顕微鏡(3D-ISM: 3 Dimensional Internal Structure Microscope)の試料観察部を新たに開発した。すなわち、広範囲共焦点光学系として市販の CSU-W1 を導入し既存の拡大光学系と接続、導入した重量 20kg の共焦点ユニットに耐えるよう顕微鏡の架台を改良した。また、3 波長同時観察光学系の設計検討を進めるとともに、撮像系として超高感度 cMOS カメラについて市販の製品の検討を進める一方、撮像カメラメーカーに呼びかけて新規カメラの開発の可能性について検討している (横田)。

血管組織の 2 次元連続断面画像から関心領域の形状を適切に抽出する手法の探索を目的とし、先行研究をレビューした結果、この分野では汎用ソフトウェア Mimics が広く使用されていることがわかった。しかし、血管組織の微細構造を考慮したモデル化は、計算機に対してかなり負荷の高いことが判明した。共同研究者の横田らが開発したソフトウェア VCAT も 3 次元モデル化に有用なツールであると思われることから、今後はその使用可能性も検討する。また、今後の画像解析ならびに数値解析の本格稼働に備え、CPU18 コア、メモリ 64GB のワークステーションを年度末に導入した (田村)。