

分岐形態形成過程の組織力学測定のための原子間力顕微鏡法

Atomic force microscopy for tissue mechanics during branching morphogenesis

北大情報科学¹, 関玲央¹, 杉本健太¹, 岡嶋孝治¹

Grad. Sch. Info. Sci. & Tech. Hokkaido Univ.¹, Reona Seki¹, Kenta Sugimoto¹,

Takaharu Okajima¹,

E-mail : seki.007@ist.hokudai.ac.jp

分岐形態形成とは、間葉組織に包まれている上皮組織に裂け目構造 (cleft) が生じ、腺房構造 (bud) が形成されていく組織形成過程である。分岐形態形成を伴う組織では、複雑な樹状化した組織構造が形成されていくことが知られている [1] が、時空間的な分岐形態形成のメカニズムには不明な点が多く残されている。分岐形態形成中の細胞の空間的な力学的挙動を理解することは、人工臓器の開発などの再生医療にとって非常に重要である。原子間力顕微鏡 (AFM) は細胞内空間分解能で細胞の力学特性を測定することができる。しかし、一般に、カンチレバーの探針を用いた測定のため、表面粗さが大きなサンプルの計測には不向きである。分岐形態形成過程の組織力学測定を、立体障害なく行うには、組織表面粗さに対応する長探針プローブが必要になる。そこで、本研究では組織力学測定が可能な長探針カンチレバーを作製し、それを用いた AFM 応力緩和測定法を用いて、分岐形態形成組織のレオロジー特性を測定することを目的とした。本実験では、マウスの顎下腺組織を用いた。発生初期の顎下腺の顎下腺を得るために妊娠 12.5 日目~13.5 日目のマウスから胎仔を取り出し、胎仔から顎下腺を摘出した。薬剤処理によって間葉組織を取り除き、得られた上皮組織を自作 AFM で測定した。長探針カンチレバーの作製において、市販のカンチレバー (AC-40TS、オリンパス社) の探針の先端に、可視光レーザー (波長 408 nm) を用いたマイクロ加工により光硬化樹脂からなる長探針を作製した。そして、作製した長探針の先端にエポキシ硬化剤を用いて球形シリカビーズ (直径 10 μm) を付着させて、定量力学測定を可能にした。実験の結果、分岐形態形成過程で生じる顎下腺の cleft が、bud より弾性率が大きく、粘性成分は小さいことが分かった。また、分岐形態形成の極めて初期の状態において、bud 領域の表面形状像に cleft 開始の僅かな谷構造が見られるが、その谷構造に沿って弾性率が硬くなる場合があることが分かった。当日は分岐形態形成過程の顎下腺のレオロジー特性、そして、アクチン [2] とミオシン [3] を阻害した顎下腺の力学特性を報告する予定である。

謝辞： マウス顎下腺のサンプル調製において、武田 宏明博士・松本 卓博士 (岡山大) に感謝いたします。

<参考文献>

- [1] Hogan, B.L., Cell, 96, 225 (1999).
- [2] Spooner, B.S. and N.K. Wessells, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 66, 360(1970).
- [3] William P. D., et. al., Dev. Biol., 336, 168 (2009).