

伸展刺激時の肺胞上皮細胞内の小胞輸送

世良俊博*, 阿部拓磨**, 西山大貴**, 中嶋和弘*, 工藤奨*

*九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門 [〒819-0396 福岡県福岡市西区元岡 744 番地]

**九州大学大学院 工学府 機械工学専攻

1. 緒言

肺胞を覆っている肺胞上皮細胞は肺の虚脱を防ぐために肺サーファクタントを細胞内の小胞から分泌する。肺胞上皮細胞は、人工呼吸器などにより過度な力が加わると小胞分泌能が喪失することが知られている。一方で、伸展刺激に対して細胞骨格を再構築させることで形態変化を行う。伸展刺激に対する肺胞上皮細胞の形態変化と分泌能に関係があることが示唆されている^{1,2)}が、細胞骨格と分泌能の関連は詳しくわかっていない。

本研究では、肺胞上皮細胞を弾性薄膜上に培養し、単軸伸展時の細胞骨格の変化と細胞内小胞輸送の関係を調べた。

2. 実験方法

PDMS 製のチャンパーに A549 細胞 (ヒト由来腺ガン化肺胞上皮 II 型細胞) (JCRB, Japan) を播種し、20%の伸展負荷 (1, 3, 6 時間) を与えた。小胞の染色にはキナクリン二塩酸塩二水和物を用いた。キナクリンは小胞内に取り込まれると緑色蛍光を発する。キナクリン導入後の細胞に対して伸展刺激を負荷し、共焦点顕微鏡で断層画像 (1 μm 間隔) を取得した (Fig. 1A)。その後、ローダミンファロイジンによって細胞骨格を染色し、共焦点顕微鏡を用いて断層画像 (1 μm 間隔) を取得した (Fig. 1B)。撮影後、共焦点画像から細胞の断面を抽出し、キナクリンと F アクチンの各断面内平均輝度を求め、伸展刺激による細胞内の小胞と細胞骨格の量と位置の変化を検討した。

3. 実験結果

伸展負荷を与えずに静置した状態では、時間が経過するにつれて細胞上部 (PDMS 膜が底面) でキナクリンが減少していた。特に 1 時間で約 4 割減少していた。

それに対し、伸展負荷によって細胞内の小胞は増加した。伸展刺激 1 時間では細胞上部から 10 μm に小胞が最も多く存在し、F アクチンはそれよりも上部 (8 μm) に最も多く存在した。伸展刺激 3 時間になると細胞内の小胞は減少し、F アクチンも減少していた。伸展時間 6 時間では、再度細胞上部で小胞が増加し、F アクチンは細胞全体で増加していた。

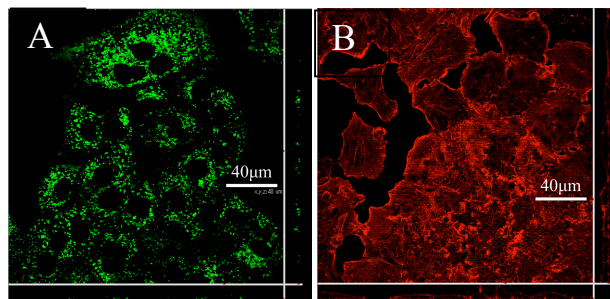


Fig. 1 細胞内の小胞 (A) と F アクチン繊維 (B)

4. 考察

静置状態では細胞内の小胞は 1 時間で約 4 割減少したのに対し、伸展刺激を加えると細胞内の小胞は増加し、その時 F アクチンは小胞が存在する上部で特に増加していた。このことから、小胞輸送が F アクチンの重合によって阻害されていることが考えられる。一方で、伸展刺激 3 時間では F アクチンは一旦減少し、細胞内の小胞も減少していた。これは、F アクチンが脱重合し小胞輸送の阻害が解消されたためと思われる。

5. 結言

静置状態では細胞内の小胞は減少していたが、伸展刺激により細胞内の小胞は増加し同時に F アクチンも増加していた。また、F アクチンが減少すると細胞内の小胞も減少した。これらの結果から、伸展刺激による細胞骨格の重合・脱重合と細胞内小胞輸送に関係があることが示唆された。

謝 辞

本研究は JSPS 科学研究費 補助金 (科研費) (26350505) の助成を受けたものである。

文 献

- 1) Gao, J., Huang, T., Zhou, L. J., Ge, Y. L., Lin, S. Y., and Dai, Y.: Preconditioning effects of physiological cyclic stretch on pathologically mechanical stretch-induced alveolar epithelial cell apoptosis and barrier dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **448**(3), 342-348, 2014.
- 2) Mahto, S. K., Tenenbaum-Katan, J., Greenblum, A., Rothen-Rutishauser, B., Sznitman, J.: Microfluidic shear stress-regulated surfactant secretion in alveolar epithelial type II cells in vitro. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.*, **306**(7), L672-683, 2014