

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		肺気管支上皮細胞における形態形成因子の同定と三次元分岐発達モデルの作成			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of branching model in bronchial epithelial cells			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)ハギワラ	名)マサヤ	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	萩原	将也	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	HAGIWARA	MASAYA	研究機関名	大阪府立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		大阪府立大学21世紀科学研究機構ナノ科学材料研究センター・テニュアトラック講師			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>肺気管支は非常に複雑な三次元分岐構造を有しているにも関わらず、そのパターン形状は同じ種の中ではほぼ同一である。しかし細胞がどのようにしてお互いの位置を感知して全体としての固有の三次元構造を形成しているかという発達のメカニズムについては不明な点が多い。そこで本研究では、in vitro で気管支上皮細胞が分岐形成を行う実験系を構築し、気管支の分岐形成における形態形成因子を同定することにより分岐形成メカニズムを解明することを目的に研究を進めた。本研究結果は主に下記2点である。</p> <p>1. In vitroにおける気管支樹を発生する実験系の構築 これまで気管支の分岐形成を in vitro で行う実験系は初期分岐のみを有しており、2次・3次分岐へと連なる実際の気管支形状とはほど遠い形状であった。しかし1次分岐とその後の2次・3次分岐では必要となる因子が異なることも知られており、現在の実験系では分岐形成メカニズム解明には限界があった。そこで本研究では、正常ヒト気管支上皮細胞を血管内皮細胞と特定の条件下において共培養することにより、複数分岐の気管支樹を有する実験系の構築を達成した。免疫染色およびRT-PCRにより、形成された分岐にはBMP-4、FGFR2、Shh、TGF-β2などの形態形成因子が発現されていることが確認され、従来の組織切片を用いた研究報告と一致していることが確認できた。本実験系を用いることにより限定した細胞種のみで気管支樹を形成するため、従来の in vivo や組織切片での研究と比較してシグナルノイズを大幅に低減することができ、本分野の研究推進に大きく貢献することが期待できる。</p> <p>2. 三次元培養における観察プラットフォームの構築 細胞組織の三次元培養における大きな障害の一つに観察系の難しさがある。三次元構造体の形状を観察するためには従来では共焦点のようなレーザー顕微鏡が必須であったが、サンプルに厚みがある場合や長期間のタイムラプス計測には不向きであった。任意の細胞外マトリックスとアガロースゲルを組み合わせ作成した立方体内にて細胞組織を三次元培養し、多面から細胞組織を観察することにより染色することなく細胞組織の三次元構造認識が可能な実験プラットフォームを構築した。</p> <p>現在、上記の研究成果をまとめ、論文投稿中である。</p>					
キーワード FA		分岐形成	三次元培養		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Lung branching structure is the one of the most complex pattern formation and the mechanisms of branching morphogenesis has not been fully understood yet.

##### 1. Development of in vitro experimental model for bronchial tree.

In our previous study, we have succeeded in developing tubular branching structure in vitro using lung epithelium cells. However, the branching structure was still immature with simple protrusion from a cell clot. The actual lung airway has much more complicated formation with multiple bifurcation to fill the three dimensional space. We have succeeded in developing branching structure with secondary and tertiary branching by applying specific proteins to in vitro culture environments coculturing bronchial epithelial cells with human endothelial cells. The whole size of branches grow in the order of millimeter and the tip of braches formed shapes like alveo. The developed experimental model gives varieties of new insights in lung developments and has a potential to accelerate the study of developmental mechanisms, pattern formation, left-right asymmetry, and pathogenesis of human lung.

##### 2. In Vitro 3D Culturing Platform with Hybrid Gel Cubes for Omni-Directional Observation

In vitro three dimensional culture is essential to analyze morphogenesis, molecular interaction, and the underlying system of pattern formation as well as control organ shapes and sizes. However, the observation of developed 3D structure becomes often difficult especially if the size of the sample is relatively large. In order to overcome these problems, we have developed an omni-directional imaging device by composing 2 different hydrogel types in cubic frame. The target sample can be observed from 6 directions by rotating the device. Then, 3D structure of the samples can be recognized without fluorescent by synthesizing the multiple views.