

公益財団法人 立松財団 御中

様式 2021A1,A2,B

2024年 8月 1日

所属:

氏名: Kim Jeonghyun



2022年度 助成

研究 経過 ・ ○終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	骨オルガノイド構築と骨細胞分化機構の解明
研究の結果	<p>本研究では、U 底細胞非接着培養皿を用いてマウス骨芽前駆細胞および間葉系幹細胞由来の 3 次元細胞凝集体スフェロイド (Spheroid) を作製した。先行研究では、このスフェロイドは骨細胞分化がわずか 2 日で誘導されることが明らかになっていたが、本研究ではこのスフェロイドを骨分化誘導剤で長期培養した。石灰化組織を赤く染めるアリザリンレッド染色により、35 日目のスフェロイド内部の組織が石灰化することが明らかになった。また、この過程でスフェロイド内の細胞死が初期の段階で見られることもわかった。その代わりに、長期培養中にコラーゲンなどの細胞外基質が分泌されていることを二光子顕微鏡の SHG (Second Harmonic Generation) イメージングで確認した。このコラーゲンにカルシウムが沈着し、長期培養後に石灰化を引き起こすことが明らかになった。さらに、3 軸マニピュレータを用いた骨スフェロイドのガラス板圧縮実験系を開発した。圧縮試験により押し込まれる荷重(F)、スフェロイドの変位(δ)、ガラス板のたわみ(ばね定数; k)を用いてスフェロイドの培養期間(2、7、14、21、28 日目)による硬さ(ヤング率; E)の変化を定量することに成功した。その結果、長期培養スフェロイドが顕著に硬くなることを確認した。さらに、このスフェロイドの圧縮時には、スフェロイドが粘弾性的挙動を示すことも明らかになった。現在は、このスフェロイドの内部組織の力学特性および力学環境を調べるため、スフェロイドの切片を作成し、原子間力顕微鏡を用いた研究を進めている。</p>
研究発表 (実績)	<p>【学術論文】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Inagaki, Kim*, Tomida, Maeda, Matsumoto, 3D quantitative assessment for nuclear morphology in osteocytic spheroids with optical clearing technique, <i>Integrative Biology</i>, 15: ziad007. (Apr 2023) 2) Tomida, Kim*, Maeda, Adachi, Matsumoto, Spatiotemporal analysis of multi-scale cell structure in spheroid culture reveals hypertrophic chondrocyte differentiation, <i>Cell and Tissue Research</i>, In press. 3) Inagaki, Kim*, Maeda, Matsumoto, Macroscopic viscoelastic behaviors of spheroids derived from mesenchymal stem cells under compression, <i>Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials</i>, Under review. <p>【学会発表】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Kim*, Tomida, Maeda, Adachi, Matsumoto, Spatiotemporal analysis for hypertrophic chondrocyte differentiation in spheroid culture, <i>Summer Biomechanics, Bioengineering and Biotransport Conference (SB3C2024)</i>, June 11-14, 2024, Lake Geneva, WI, USA 2) Kim*, Inagaki, Niioka, Maeda, Matsumoto. In vitro platforms to study biomechanics and mechanobiology for 3D spheroid models, <i>the 19th IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (IEEE NEMS 2024)</i>, May 5, 2024, Kyoto, Japan 3) Kim*, Tomida, Maeda, Adachi, Matsumoto. Biomechanical analysis in spheroid culture: Induction of hypertrophic chondrocyte differentiation, <i>the 12th Asian-Pacific Conference on Biomechanics</i>, November 16-19, 2023, Kuala Lumpur, Malaysia. <p>その他(国際学会 4 回・国内学会 12 回)</p>

提出期限: 研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。