T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

論題	ストレスファイバーと細胞膜の弾性率の推定
Title	Estimation of the Young's modulus of a stress fiber and a membrane
著者	滝本 陽平, 高橋 航圭, 因幡 和晃, 岸本 喜久雄
Author	youhei takimoto, Kosuke Takahashi, Kazuaki Inaba, KIKUO KISHIMOTO
出典	日本材料学会第62期通常総会・学術講演会および併設行事, , ,
Citation	, , ,
発行日 / Issue date	2013,

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

ストレスファイバーと細胞膜の弾性率の推定

東京工業大学[院]　○滝本陽平，東京工業大学　高橋航圭，因幡和晃，岸本喜久雄

Estimation of Young's modulus of a stress fiber and a Membrane

Yohei TAKIMOTO，Kosuke TAKAHASHI，Kazuaki INABA and Kikuo KISHIMOTO

1　緒　　言

近年，細胞の力学特性に注目が集まっている．特に弾性率は細胞の操作条件や生体の数値シミュレーション，がん研究において有益な物性値である．細胞の弾性率において，最も重要な細胞の構成要素にストレスファイバー（SF）がある．SF は細胞の形状や剛性を制御する働きがあり，細胞の剛性に対して支配的であるとされ注目を集めている．既存の研究では，細胞から単離した SF の弾性率の測定[1)]が行われている．しかし，この方法では SF と細胞膜の結合の影響を無視しており，細胞内における SF の特性と異なる可能性がある．また，細胞全体を対象にして弾性率を測定する手法[2)]がとられているが，この方法では細胞内組織の詳細な弾性率を測定することができない．そこで本研究では SF と細胞膜を包括的に捉えた実験データから，それぞれの弾性率を推定する手法を提案し，その有効性を確認することを目的とする．

2　弾性率の推定手法

2．1　原子間力顕微鏡(AFM)実験

AFM のカンチレバーを細胞に押しつけ，基盤に対して水平方向にカンチレバーを動かすことで SF に変位を与えた．細胞内の SF の軸方向に対して垂直になるように変位を与え，曲げ変形させた．このときの荷重を測定し，同時に蛍光顕微鏡を用いて変形の様子を撮影した．今回の AFM 実験のデータは計らの研究結果を用いた．この研究で用いた細胞は鋤鼻器由来のラット繊維芽様細胞 VNOf06 である．Fig.1 はこの実験で得られた蛍光顕微鏡による画像である．

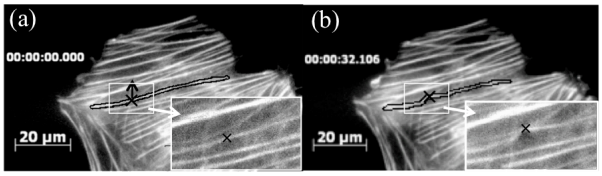

Fig.1 Cell deformation in AFM experiment

実験では Fig.1 (a)の×印付いた点からカンチレバーが押し込まれ，矢印の向きに移動させた．このとき黒線で輪郭をなぞった SF が変形し，破断した．その直後に細胞膜も破断した．弾性率の推定には細胞膜が破断する前の状態を対象にした．Fig.1 (b)では SF の変形後の様子を示している．×印が荷重点を示している．SF の荷重点付近が局所的に変形することが観察された．

2．2　特徴点追跡

画像から変位を求める方法として画像相関法などがあるが，細胞は微小であり直接目印を付けることは困難である．そこで今回は映像から特徴点を抽出し，追跡することで SF の変位を求めることにした．特徴点の抽出，追跡を行うために，Intel が公開している OpenCV のサンプルプログラムである lkdemo を参考にプログラムを作成した．アルゴリズムには Lucas-Kanada 法が用いられている．特徴点抽出は Fig.2 のように実行された．円で囲んだ部分で SF の変形が顕著であり，この領域に注目をして以下で説明する逆解析を行った．

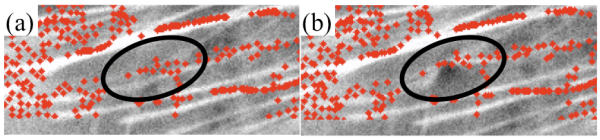

Fig.2 Feature point tracking : (a) initial , (b) deformed

2．3　有限要素解析

細胞膜と SF からなる細胞の有限要素解析モデルを作成し変位解析を行った．有限要素解析には汎用有限要素解析ソフト ABAQUS-Standard を用いた．細胞の厚さは水平面方向の細胞の大きさに対して 10 分の 1 以下の大きさであるため，平面応力状態と見なし 2 次元の均一な厚さを持つ解析モデルを作成した．今回の細胞モデルの厚さは注目する SF の太さと等しくした．また，細胞膜の弾性率は，解析で得た細胞膜の弾性率に実際の細胞膜の厚さと解析モデルの厚さの比を乗じることによって換算して求めた．

まず，解析モデルの形状として特徴点抽出で得た座標のデータをもとに作成を試みた（以下特徴点モデル Fig. 3 (a)）．しかし，特徴点を抽出できない箇所が多いことから，実際の細胞と比べ SF の数が減少したモデルになった．

細胞の再現度を向上させるため，画像処理を用いて SF の輪郭を抽出し，その輪郭を利用して解析モデルを作成することにした（以下エッジモデル Fig.3 (b)）．このプロセスは Z.Q. Yue[3)]らの手法を参考にした．まず，中間値フィルタと色の調節を行って画像中のノイズの除去をした．次に画像を 2 値化しエッジを明確にし(Fig. 4 (a))，その後 Canny 法でエッジ抽出をした（Fig. 4 (b)）．特徴点モデルと比べ SF の再現度が向上していることが確認できる．

AFM 実験では，細胞は接着班と呼ばれる組織で基盤と接着しており，SF はこの接着班を端点として成長していた．そのため，境界条件として SF モデルの端点を完

全に固定した．荷重は静的集中荷重とし，AFM 実験で得られた値 0.49 μN を入力した．これは SF が破断する直前の値である．解析モデルは線形弾性体モデルとし，ポアソン比は SF，細胞膜ともに 0.499 とした．解析モデル要素は 4 辺形ソリッド要素とし, SF モデルと細胞膜モデルの境界は滑りのない接触とした．

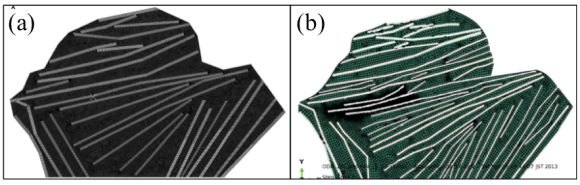

Fig.3 (a) Old FEM model , (b) New FEM model

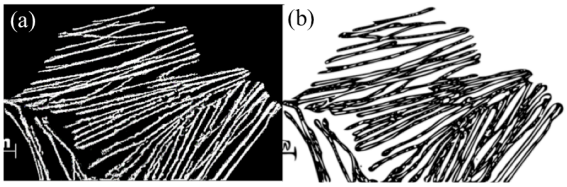

Fig.4 (a) Binarization , (b) Edge detection

解析において細胞膜モデルと SF モデルの弾性率を変数として取り扱い，解析で得た SF の変位と特徴点追跡で得た SF の変位を比較し，両者の差が最小となるような弾性率を同定した．このとき以下の評価関数を用いた．

$$f(c)=\frac{1}{n}\sum_{i}^{n}\left\{\frac{y_{FEM}(x_i)-y_{EXP}(x_i)}{y_{EXP}(x_i)}\right\}^2$$

c は弾性率，y_{FEM} は SF の変位の解析値，y_{EXP} は SF の変位の実験値，x_i は荷重点からの距離を表す．この目的関数の最小化手法には Levenberg – Marquardt 法を用いた．

3　推定結果と考察

特徴点モデルとエッジモデルそれぞれの弾性率推定結果と解析モデルの変形図，実験と解析における SF の変位を Table. 1 と Fig. 5, Fig. 6 に示す．解析モデルの変形図と実験での変形の様子とを比較すると，両モデルともに局所的な変形をするという特徴は捉えられている．しかし，特徴点モデルでは注目する SF のすぐ下にある SF も変形しており，エッジモデルでは下にある SF の変形が見られないという点で違いが現れた．実際の細胞の変形の様子に近いのはエッジモデルである．また，目的関数の値もエッジモデルの方が小さくなっており，解析モデルの作成にエッジ抽出を行ったことで推定精度が向上できたと言える．

特徴点モデルとエッジモデルで弾性率の推定結果に大きな違いが生じた原因として, SF モデルの数や太さが異なり，剛性に差が生じたということが考えられる．本手法では変位に注目して逆解析を行うため，解析モデルの剛性が結果に大きく影響を与えることになる．そのため，細胞の形状を模擬する精度が重要になる．

他の弾性率に関する研究結果として， SF を単離して測定した時の弾性率は 104 MPa が報告されている．また，ストレスファイバーの成分であるアクチンファイバーの弾性率は過去に 1.8 GPa[4)] , 2.6 GPa[5)] が報告されている．今回の推定結果はこれらと比較して同程度のオーダーにある．今後，本手法の信頼性を検証するために，弾性率が既知の材料に対して本手法で推定を行い，その結果を既知の値と比較することにする．

Table.1 Results of Young’s modulus estimation

	SF [Mpa]	Membrane [Mpa]	Objective Function
Feature point	39.1	9.28	6.07×10^{-3}
Edge	625	0.924	3.45×10^{-3}

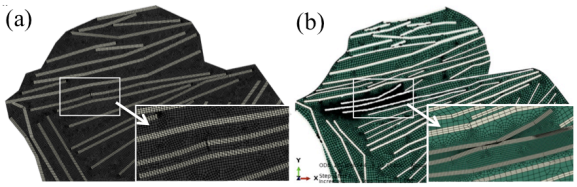

Fig. 5 (a) Deformed old model, (b) Deformed New model

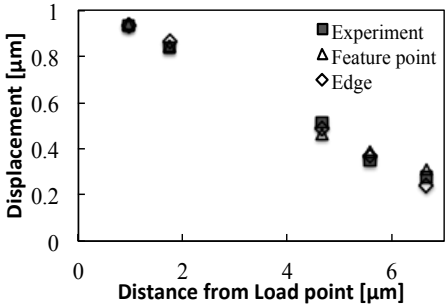

Fig. 6 Comparison between Experiment and FEM models

4　結言

逆解析を用いた弾性率の推定手法を提案し，弾性率の推定をおこなった．画像処理を用いて FEM モデルの改善ができた．SF の弾性率として 625 MPa，細胞膜の弾性率として 0. 924 MPa を得た．

謝辞

AFMによる実験データを提供してくださった東京工業大学 イノベーション研究推進体 学術創成研究グループ主任　猪飼篤教授と実験を行った計知朗研究員に深く感謝いたします．

参考文献

1) S. Deguchi, T. Ohashi, and M. Sato, Journal of biomechanics, 39, 2603 - 2610 (2006)
2) 日本機械学会, 細胞のバイオメカニクス，(1990).
3) Z. Q. Yue, S. Chen, L. G. Tham, Computers and Geotechnics, 30, 375 - 397 (2003)
4) H. Kojima, A. Ishijima, and T. Yanagida, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 12962 - 12966 (1994)
5) F. Gittes, B. Mickey. J. Nettleton and J, Howard, The journal of cell biology, 120, 923 - 934 (1993)