

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 挑戦的萌芽研究 4. 研究期間 平成22年度～平成23年度
5. 課題番号 2 2 6 5 7 0 4 1
6. 研究課題名 フェムト秒レーザー誘起衝撃力による単一細胞刺激と活性化機構の解析
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
2 0 4 4 8 0 8 8	<small>ホリカワ</small> 細川 <small>ヨシイロウ</small> 陽一郎	物質創成科学研究科	特任准教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
8 0 2 7 3 6 4 7	<small>イトウ</small> 伊藤 <small>アキヒコ</small> 彰彦	近畿大学・医学部	教授
8 0 2 5 4 3 0 8	<small>フルノ</small> 古野 <small>タカヒデ</small> 忠秀	愛知学院大学・薬学部	准教授

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

高強度の近赤外フェムト秒レーザー光を顕微鏡下で細胞培養液に集光すると、効率的な多光子吸収により集光点で爆発現象が引き起こされる。この爆発現象により発生する衝撃力は、マイクロオーダーの領域に局在するため、1細胞の局所領域に機械刺激を加えられる。本研究では、この局所的な機械刺激を単一の細胞に加えた時に引き起こされる細胞活性の変化を調べ、細胞の機械刺激応答を1細胞レベルで明らかにする新しい解析手法の確立を目指している。本年度は、筋芽細胞と神経細胞にカルシウムインディケーター(Fluo-8 など)を添加した細胞を培養し、それらの培養細胞の横にフェムト秒レーザーを集光照射し、細胞の活性変化をレーザー照射位置依存性、照射パルス間隔依存性として調べた。その結果、レーザー照射強度90 nJ/pulse以上では、衝撃力の印加回数に依存したが、70 nJ/pulseでは、衝撃力の印加回数依存性はみられなかった。90 nJ/pulse以上にみられる照射回数に依存している成分は、複数回の衝撃力印加により、細胞膜が物理的損傷を受けたことに起因すると考えられる。一方、70 nJ/pulseにみられる衝撃力印加回数に依存しない応答は、細胞が1 ms (1/ 1000 Hz) より短い時間を感じ、単発の衝撃力により、Ca²⁺濃度に変化がもたらされた結果である。衝撃力による細胞内Ca²⁺濃度上昇の過程として(i)細胞培養液中のCa²⁺が細胞内に流入した可能性、(ii)細胞内にCa²⁺が貯蔵されている小胞体から細胞内に放出した可能性が考えられる。Ca²⁺を含まないCa²⁺-free蛍光測定用緩衝溶液を用いて同様の実験を行ったところ、Ca²⁺濃度が増加する細胞はみられなかった。これは、衝撃力に起因する細胞内Ca²⁺濃度上昇におけるCa²⁺濃度の上昇過程は、(i)に起因することを示唆する。また、電位依存刺激によるCa²⁺濃度上昇が確認されている神経細胞でも同様の実験を行ったところ、衝撃力印加後にC2C12と同じCa²⁺濃度上昇が観察された。

10. キーワード

- (1) フェムト秒レーザー (2) 衝撃力 (3) 細胞
- (4) カルシウムイオン (5) イメージング (6)
- (7) (8)

(裏面に続く)

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 3 ）件 うち査読付論文 計（ 3 ）件

著者名	論文標 題			
Yoichiroh Hosokawa	Non-contact estimation of intercellular breaking force using a femtosecond laser impulse quantified by atomic force microscopy			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Proceedings of the National Academy of Sciences of USA	有	Vol. 108	2 0 1 1	1777-1782

著者名	論文標 題			
Man Hagiya	Enhanced nerve-mast cell interaction by a neuronal short isoform of cell adhesion molecule-1, CADM1			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of Immunology	有	in press	2 0 1 1	in press

著者名	論文標 題			
Yung-En Kuo	Local stimulation of cultured myocyte cells by femtosecond laser-induced stress wave			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Applied Physics A	有	Vol. 101	2 0 1 0	597-600

〔学会発表〕 計（ 12 ）件 うち招待講演 計（ 3 ）件

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	超短パルスレーザー誘起衝撃力による細胞操作とその定量評価	
学会等名	発表年月日	発表場所
第73回レーザー加工学会（招待講演）	2010年5月25日	大阪大学（大阪府）

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	フェムト秒レーザー誘起マイクロ津波による細胞操作	
学会等名	発表年月日	発表場所
レーザー学会学術講演会第31回年次大会（招待講演）	2011年1月9日	電気通信大学（大阪府）

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	Development of manipulation and stimulation methods for single plant cells utilizing femtosecond laser	
学会等名	発表年月日	発表場所
第52回日本植物生理学会年会（招待講演）	2011年3月20日	東北大学（宮城県）で開催予定が中止となり要旨集で発表

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	フェムト秒レーザーの鍼治療への応用のための基礎検討	
学会等名	発表年月日	発表場所
第71回応用物理学会学術講演会	2010年9月14日	長崎大学（長崎県）

発表者名	発表標 題	
飯野敬矩	フェムト秒レーザー誘起衝撃力と原子間力顕微鏡を用いた神経-マスト細胞間接着の力学的評価	
学会等名	発表年月日	発表場所
第71回応用物理学会学術講演会	2010年9月14日	長崎大学（長崎県）

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	フェムト秒レーザー誘起衝撃力による単一細胞の操作と刺激	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	東北大学 (宮城県)

発表者名	発表標 題	
飯野敬矩	フェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用した神経-マスト細胞間の接着力の時間変化の評価	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	東北大学 (宮城県)

発表者名	発表標 題	
平岡章宏	フェムト秒レーザー誘起衝撃力を用いた培養動物細胞の過渡力学応答の検討	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
レーザー学会学術講演会第31回年次大会	2011年1月9日	電気通信大学 (大阪府)

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	フェムト秒レーザー誘起衝撃力による培養筋芽細胞の過渡力学応答の蛍光イメージング解析	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第58回 応用物理学関係連合講演会	2011年3月24日	神奈川工科大学 (神奈川県) で開催予定が中止となり講演 予稿集で発表

発表者名	発表標 題	
古野忠秀	神経刺激に伴うマスト細胞の脱顆粒に及ぼすプロボリスの影響	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
日本薬学会第131年会	2011年3月31日	静岡市で開催予定が中止となり 要旨集で発表

発表者名	発表標 題	
Tadahide Furuno	Relationship between calcium response and adhesion strength in nerve-mast cell interaction	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
生物物理学会第48回年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標 題	
Tadahide Furuno	Involvement of cell adhesion molecule 1 (CADM1) in nerve-mast cell communication	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
14th International Congress of Immunology	2010年8月23日	Kobe

〔図 書〕 計 (2) 件

著 者 名	出 版 社		
細川 陽一郎	株式会社シーエムシー出版		
書 名		発 行 年	総ページ数
「リアルタイム計測による生命現象の解析」 第4章 フェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用した細胞接着力の非接触計測		2 0 1 1	33-41

著者名	出版社		
Furuno, T.	Springer		
書名	発行年	総ページ数	
Neuropeptide: Methods and Protocol	2 0 1 1	印刷中	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出願】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取得】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--