

平成23年度科学研究費助成事業（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、ミクロン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、高強度のフェムト秒レーザーを照射している中でも観察することが可能な共焦点蛍光顕微鏡システムを開発した。その結果、前年度に構築したカルシウムインディケータ（Fluo-8）を添加した神経細胞や筋芽細胞などの培養動物細胞の蛍光イメージを秒速1コマ程度の速度で撮影しながら、その中で標的とする細胞にフェムト秒レーザー誘起衝撃力を付加し、その蛍光強度の時間変化を調べることに成功した。分担研究者である伊藤教授らは、マウスから摘出した初代培養神経細胞とマスト細胞を共培養した系を用いて上記システムによる実験を実施した。その結果、神経細胞を衝撃力により刺激すると、その直後に神経細胞のカルシウムイオン濃度が増加し、さらにそのシグナルがマスト細胞に伝達し、マスト細胞のカルシウムイオン濃度が増加する挙動が観察された。この結果は、培養皿上に無秩序に構成された神経細胞とマスト細胞間のコミュニケーションネットワークにおいて、神経のみを刺激し、神経細胞とのコミュニケーションのみでマスト細胞を1細胞レベルで刺激する新しい解析手法を確立したと位置づけられる。さらに、分担研究者である古野忠秀准教授らにより、Transient receptor potential channels (TRP channels)を抑制したマウス筋芽細胞(C2C12)が開発された。TRP channels は、機械刺激により応答し、カルシウムイオンを細胞外から取り込む受容チャネルとして知られている。現在、正常細胞と数種類のTRP channelsを抑制した細胞にFluo-8を添加し、上記のレーザー照射・観察システムを用いて、その挙動を明らかにしようとしている。

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) |

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分)
(理由)

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

--

13. 研究発表（平成23年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

【雑誌論文】 計（3）件 うち査読付論文 計（3）件

著者名	論文標題				
Man Hagiyama, Tadahide Furuno, Yoichiroh Hosokawa, Takanori Iino, Takeshi Ito, Takao Inoue, Mamoru Nakanishi, Yoshinori Murakami, and Akihiko Ito	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
J Immunol.	有	Vol. 186 No. 10	2	0	1 1 pp.5983-5992
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）					
10.4049/jimmunol.1002244					

著者名	論文標題				
Yoichiroh Hosokawa	Non-contact quantification of laser micro-impulse in water by atomic force microscopy and its application for bio-mechanics				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Proc. SPIE	有	Vol. 8204	2	0	1 1 p. 82041D
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）					
10.1117/12.903239					

著者名	論文標題				
細川陽一郎、飯野敬矩、萩山満、伊藤彰彦	原子間力顕微鏡を用いたフェムト秒レーザー誘起衝撃力の定量化ーバイオメカニクスへの新しいアプローチ方法ー				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
バイオイメーjing	有	20	2	0	1 2 pp. 7-12
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）					
なし					

〔学会発表〕計（ 5 ）件 うち招待講演 計（ 2 ）件

発表者名	発表標 題		
Yoichiroh Hosokawa, Takanori Iino, Man Hagiyama, Akihiko Ito	Non-contact estimation of intercellular adhesion using femtosecond laser-induced impulsive force		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
The 12th International Symposium on Laser Precision Microfabrication (LPM2011)	June 7, 2011	Takamatsu, Japan	

発表者名	発表標 題		
Yoichiroh Hosokawa	Application of Femtosecond laser-induced Impulsive Force for Biotechnology		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
the 3rd International Conference on Laser Peening and Related Phenomena	October 13, 2011	大阪国際会議場 (Osaka, Japan)	

発表者名	発表標 題		
Yoichiroh Hosokawa	Non-contact quantification of laser micro-impulse in water by atomic force microscopy and its application for biomechanics		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
SPIE Smart Nano+Micro Materials and Devices (招待講演)	December 6, 2011	Melbourne, Australia	

発表者名	発表標 題		
Takanori Iino, Man Hagiyama, Furuno Tadahide, Akihiko Ito, Yoichiroh Hosokawa	Femtosecond laser estimation of the intercellular adhesion strength between neurite and mast cell part 2		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第49回日本生物物理学会年会	2011年9月18日	兵庫県立大学(兵庫)	

発表者名	発表標 題		
細川陽一郎	メカノバイオロジー分野における数値シミュレーションの可能性		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
COMSOLカンファレンス東京 2011 (基調(招待)講演)	2011年12月2日	秋葉原UDX(東京)	

〔図 書〕 計（ 1 ）件

著 者 名	出 版 社				
細川陽一郎	オーム社				
書 名			発行年	総ページ数	
「先端固体レーザー」第8章2章10項「バイオ応用」			2011	3	

14. 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
				出願年月日	

15. 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。

--