16p-A3-8

フェムト秒レーザー誘起衝撃力による神経-マスト細胞間の情報伝達の評価

Investigation of Communication between Nerve and Mast Cell by Femtosecond Laser-Induced Impulsive Force

奈良先端大物質創成 [1]，近畿大医 [2]，愛知学院大薬 [3]　○飯野 敬矩 [1]，萩山 満 [2]，古野忠秀 [3]，伊藤彰彦 [2]，細川陽一郎 [1]

Nara. Inst. Sci. Tech. [1], Kinki Univ. [2], Aichi-Gakuin Univ. [3], ○Takanori Iino[1], Man Hagiyama[2], Tadahide Furuno[3], Akihiko Ito[2], Yoichiroh Hosokawa[1]

E-mail: i-takanori@ms.naist.jp

細胞機能の理解には，細胞への入力と出力を定量評価し，その相関性を明らかにすることが重要である。生物学的研究において，入力には薬剤が，出力の評価にはカルシウムイメージングがよく用いられる。しかし，薬剤を用いた場合，培養皿中の多数の細胞が一斉に刺激されるため，任意の細胞への刺激を時間・空間的に制御し，細胞応答を体系的に評価することが難しい。我々は，これまでに集光フェムト秒レーザーが水中に誘起する微小な衝撃力を定量化し[1]，それを外力に用いて細胞を個々に操作する技術を開発してきた[2]。本研究では，衝撃力により任意の単一細胞を刺激し，その応答を細胞状態に基づいて簡便に評価する手法の開発を試みた。

モデル系には，神経ーマスト細胞共生培養系を用いた。本培養系では，神経突起に多数のマスト細胞が接着している。両者の間には接着を介した情報伝達が成り立っており，神経細胞が刺激を受けるとマスト細胞にシグナルが伝達される。培養系に蛍光 Ca^{2+}指示薬（Fluo-8, Ex/Em: 490 nm/514 nm）を添加後，共焦点顕微鏡上に配置し，神経突起にマスト細胞が接着している神経細胞の近傍に 20 倍対物レンズ（NA=0.46）を用いてフェムト秒単パルス（800 nm, 150 fs, 200 nJ/pulse）を集光照射して神経細胞に衝撃力を加え（Fig.1 (a)），神経細胞及びマスト細胞内の Ca^{2+}濃度を蛍光強度の変化としてモニターした（n=22/30 min）。

結果の一例を Fig.1 (b)に示す。レーザー照射直後，神経細胞内の Ca^{2+}濃度が上昇した。Ca^{2+}の高濃度領域は，胞体から神経突起の先端に向かって広がっていき，神経突起上のマスト細胞との接着箇所まで到達すると，マスト細胞内の Ca^{2+}濃度も上昇した。また，Ca^{2+}濃度が上昇したマスト細胞は約半数であった。両者の Ca^{2+}濃度上昇の時間変化は，薬剤により神経細胞を活性化した場合と類似しており，Ca^{2+}濃度が上昇するマスト細胞数も半数程度と報告されていることから[3]，衝撃力により薬剤と同程度に細胞を刺激できることが示唆された。講演では，衝撃力を加える前の細胞の状態と Ca^{2+}濃度上昇の関係性についても議論する。

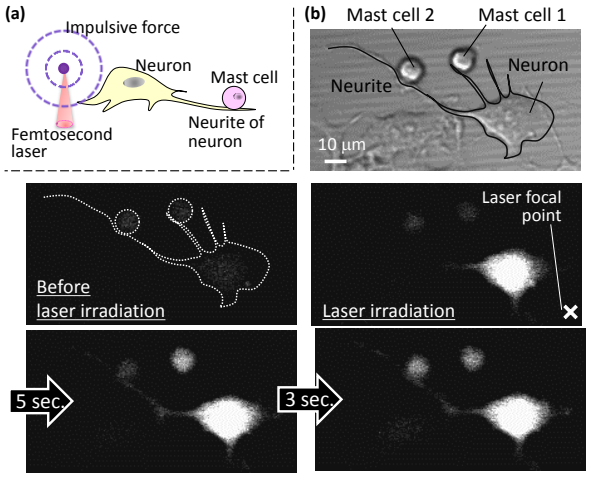

Fig. 1 (a) Representation of loading the impulsive force on the neuron. (b) Temporal and spatial evolution of the high concentration Ca^{2+} region in the cells.

[1] T. Iino, and Y. Hosokawa, Appl. Phys. Express **3**, 107002 (2010).
[2] T. Kaji, S. Ito, et al, Appl. Phys. Lett. **91**, 023904 (2007).
[3] M. Hagiyama, T. Furuno, et al, J. Immunol. **186**, 5893 (2011).

© 2013 年　応用物理学会