

フェムト秒レーザー誘起衝撃力による単一神経細胞の機械応答

Mechanical Response of Single Nerve Cells Induced 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 Iino¹, Man Hagiyama², Tadahide Furuno³, Akihiko Ito², Yoichiroh Hosokawa¹

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

ヒトの皮膚感覚において、圧力などの機械刺激は重要な感覚情報の1つである。一般に、皮膚への機械刺激は一次感覚神経などにより受容されることが知られているが、神経細胞がどのような機械刺激を受容し、その結果、神経細胞内でどのようなシグナル伝達が引き起されるについては未だ不明な点も多い。我々は、これまでに集光フェムト秒レーザーが誘起する過渡応力を衝撃力として定量化し^[1]、単一細胞の機械刺激に対する応答を調べるための新しい方法を提案してきている。本研究では、衝撃力を用いて神経細胞の機械刺激への応答を詳細に調べる手法の開発を目的に、単一神経細胞に衝撃力を加え、それに対する応答の検出を試みた。

モデル系には神経様に分化させた Neuro2a (N2a) を用い、N2a の衝撃力の付加に対する応答は細胞の刺激応答の一般的な指標である細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]$) の変化により評価した。細胞培養系に蛍光 $[Ca^{2+}]$ 指示薬 (Fluo-8, Ex./Em.: 490 nm/514 nm) を添加し、卓上型 CO₂ インキュベーターを備えた共焦点顕微鏡のステージ上に配置した。N2a の細胞体から 20 μ m 離れた位置にフェムト秒単パルス (800 nm, 150 fs, 150-350 nJ/pulse) を対物レンズ (NA=0.46) により集光照射し、N2a の細胞体に衝撃力を加え、その後の $[Ca^{2+}]$ を蛍光強度の時間変化としてモニターした。

パルスエネルギーが 150 nJ/pulse の場合、 $[Ca^{2+}]$ に変化はみられなかったが、200nJ/pulse 以上の場合には増加した。図 1 にレーザー集光照射後に $[Ca^{2+}]$ 増加した場合の代表的な時間変化を示す。 $[Ca^{2+}]$ は、レーザー集光照射直後に衝撃力が作用したと考えられる細胞膜付近でまず増加した。その後、 $[Ca^{2+}]$ が高い領域は細胞体内部に向かって広がっていき、細胞体全体で $[Ca^{2+}]_i$ の増加に至った。加えて、 $[Ca^{2+}]$ の増加率はパルスエネルギーと共に増加する傾向を示した。このように、単一の N2a の局所領域に機械刺激を与え、その刺激の細胞内の伝搬挙動を観察することに成功した。発表では、衝撃力を定量評価した結果と併せて、神経細胞内および神経細胞間の機械刺激応答特性について議論する。

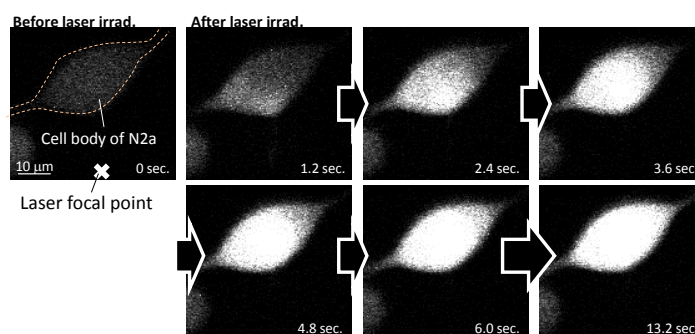


Fig. 1 Representative results of temporal and spatial evolution of high concentration Ca^{2+} region in the cells

[1] T. Iino, and Y. Hosokawa, Appl. Phys. Express 3, 107002 (2010).