

論文内容の要旨

博士論文題目：

フェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用した細胞間接着の定量化に関する研究

氏 名： 飯野敬矩

(論文内容の要旨)

細胞には、内部応力、細胞膜の張力、細胞間の接着力などの多種の力が潜在しており、こうした力学情報と細胞機能の発現とを関連付けて体系的に理解することは生命科学の発展の上で不可欠である。中でも、細胞間の力学的連結は、その時々刻々の変化が形態形成、癌の転移・浸潤などの細胞の機能発現に直接関わると考えられており、そのダイナミクスの理解が求められている。そのためには、個々の細胞間の接着を短時間で多数定量することが不可欠であるが、そのような計測手法が確立されているとは言い難い。

本研究では、細胞間接着の接着力を評価する手法として、フェムト秒レーザー誘起衝撃力に着目した。近赤外の高強度のフェムト秒レーザーを高開口数の対物レンズを通して水中に集光照射すると、集光点での効率的な多光子励起を経て水に光エネルギーが吸収され、水のマクロな形態変化が引き起こされる。この形態変化に伴い集光点から衝撃波や応力波が伝搬し、その周囲の物体に対して衝撃力として作用する。レーザー強度の調整により、衝撃力が作用する領域を数十マイクロメートルに制御することができる。この衝撃力により細胞間の接着を個々に乖離でき、その解離に必要な衝撃力を定量化することにより、細胞間の接着力を評価することができる。本研究では、原子間力顕微鏡 (AFM) を利用して衝撃力を定量化し、衝撃力の制御性を評価し、細胞間の接着を定量化する方法論を提案し、その妥当性と有用性を評価した。

第1章では、本研究の背景、目的、意義を述べた。第2章では、本研究で用いた実験システム及び細胞試料の調製方法を述べた。第3章では、衝撃力を AFM 探針の振動を解析することにより定量化する手法の開発について示した。さらに、その手法を用いて衝撃力のパルスエネルギー依存性などを調べ、衝撃力の制御性について示した。第4章では、AFM 探針との相互作用に基づいて衝撃力を現象論的に考察し、その描像をもとに細胞と衝撃力の相互作用についても現象論的に考察し、細胞間接着の定量評価における衝撃力の適用範囲の指針を示した。第5章では、この衝撃力を神経-マスト細胞共生培養系中に適用し、神経とマスト細胞間の接着力を評価し、接着が介在する両者間の生理作用の変動が予測される時間オーダーでの接着力の変化を調べ、本手法の有用性について示した。第6章では、各章の結果を総括し、生命科学における衝撃力の応用展開について示した。

(論文審査結果の要旨)

顕微鏡下で高強度の近赤外の高強度フェムト秒レーザーを集光照射すると、その集光点で、多光子励起により効率的に光エネルギーが吸収され、水の急激な形態変化（バブル発生）に伴う爆発現象が誘起される。この爆発現象に追従し、集光点から衝撃波や応力波が伝搬し、その周囲の物体に対して衝撃力として作用する。レーザー強度を調整することにより、この衝撃力が作用する領域を数10ミクロン程度に制限することができる。このような時間的空間的に局在した外力を他の方法で実現することは難しい。また、主成分が水である細胞培養液や生体材料でも同様の衝撃力を誘導することができる。本論文では、この衝撃力が培養動物細胞の大きさと同程度の領域に局在することを利用した細胞間接着力を評価する新しい方法論が提案され、その方法が生命科学の研究において有用であることが実験的に示されている。

この方法では、接着した細胞間にレーザー誘起衝撃力を作用させ、細胞間の接着を分離する。この分離に最低限必要な衝撃力の大きさを定量化することにより、その細胞間接着の強度を評価しようとする。本手法の実現のためには、この衝撃力を定量する必要がある、本論文では原子間力顕微鏡の探針に衝撃力を作用させることにより、その定量に世界で初めて成功した結果が示されている。さらにこの計測とあわせて高速カメラを用いた実験を行い、衝撃力の起源と考えられる応力波やバブルの挙動を詳細に調べ、衝撃力との関係を明らかにすると共に、その制御性について述べられている。これらの基礎的な知見を基に、細胞培養皿上で再現した人体内にある異種細胞接着系（神経突起とマスト細胞の接着系）の1000箇所程度の細胞間の接着力の数10時間にわたる時間変化を個々に調べ、その接着力の変遷に対する新規の知見を得ることに成功している。細胞接着は、生体の発生と再生、創傷治癒、感染防御などの多くの生体機能に関わる本質的な要因である。その細胞接着に対して従来法を凌駕する情報が得られる本論文に示された研究は、新規計測手法の提案に留まらず、今後の生命科学の研究に大きなインパクトを与えると期待される。よって審査員一同は本論文が博士（工学）の学位論文として価値あるものと認めた。