8C21

衝撃波照射が与える細胞内 Ca^{2+} 濃度変化 Ca^{2+} increase induced by shock wave irradiation.

正 ○塚本 哲 (防衛大学校) 非 中川 桂一 (東京大学) 非 荒船 龍彦 (東京大学)
 非 廖 洪恩 (東京大学) 非 小林 英津子 (東京大学) 非 佐久間 一郎 (東京大学)
 正 牛田 多加志 (東京大学) 正 多田 茂 (防衛大学校)

Akira TSUKAMOTO, Department of Applied Physics, National Academy of Defense, 1-10-20, Hashirimizu, Yokosuka,
 Keiichi NAKAGAWA, University of Tokyo, Tatsuhiko ARAFUNE, University of Tokyo, Hongen LIAO,
 University of Tokyo, Etsuko KOBAYASHI, University of Tokyo, Takashi USHIDA, University of Tokyo,
 Ichiro SAKUMA, University of Tokyo, Shigeru TADA, National Academy of Defense

Key words : Shock wave, MDCK cells, Ca^{2+} increase

1. 背景

生体に衝撃波を照射することで結石破壊などの治療が行われている。この衝撃波による治療について更に幅を広げるため、鉗子搭載が可能な放電駆動小型衝撃波装置を開発した。開発された放電駆動小型衝撃波装置による治療の可能性を探るため、本研究では、機械刺激によって頻繁に惹起される細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇⁽¹⁾が衝撃波を照射するか検討した。照射する対象の細胞としては、鉗子に搭載された放電駆動小型衝撃波装置が主に照射すると考えられる上皮細胞を用いた。

2. 目的

放電駆動小型衝撃波装置を用いて発生させた衝撃波が細胞応答を惹起するか検討する。特に、本研究では、上皮細胞において細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇するか検討する。

3. 材料と方法

3. 1 放電駆動小型衝撃波装置

接近させた 2 本の電極の間で放電を起こし、水中に衝撃波を発生させた。発生させた衝撃波は回転楕円体の表面を持つ鏡面で反射させた。回転楕円体は 2 つの焦点を持ち、1 つの焦点にて衝撃波を発生させ、もう 1 つの焦点にて衝撃波を再度集束させた。回転楕円体の大きさは長径 22.4mm、短径 10mm、焦点間距離 20mm とした。集束した衝撃波の圧力を測定したところ、 $2.32 \pm 0.89 \text{ MPa}$ (mean $\pm$ S.D.) であった。

3. 2 細胞培養

上皮細胞として MDCK 細胞 (イヌ腎臓尿管上皮細胞) を用いた。培養には MEM-Eagle (Sigma) を用い、血清を 10% 添加した。衝撃波を照射するため、MDCK 細胞をゼラチンゲルの上で培養した。ゼラチンゲルは音響インピーダンスが水とほぼ等しく、細胞近傍で衝撃波がほとんど乱れないことが期待された。

3. 3 衝撃波照射

MDCK 細胞に対し、2.32 MPa の衝撃波を 1 回もしくは 5 回照射した。

3. 4 細胞内 Ca^{2+} 濃度測定

MDCK 細胞を細胞内 Ca^{2+} 濃度蛍光指示薬 Fura-2AM (Dojindo) で染色し、励起光 340nm ならびに 380nm で取得された蛍光強度の比を求めて経時変化を取得した。

Fig.1 Ca^{2+} increase with shock wave exposure

4. 結果

放電駆動小型衝撃波装置を用いて発生させた衝撃波を MDCK 細胞に照射したところ、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇した。この細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は照射の回数に依存し、衝撃波を 1 回照射したときと 5 回照射したときでは 5 回照射したときの方が細胞内 Ca^{2+} 濃度はより大きく上昇した (Fig.1)。

5. 考察

観察された細胞内 Ca^{2+} 濃度のメカニズムは不明なままである。上皮細胞が衝撃波をどのように感受したのか、もしくは、どのような細胞内シグナルを介して細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇したのかは今後の課題である。感受メカニズムについて推測するに、衝撃波は細胞膜に微細な穴を開けることがシミュレーション等で示唆されていることから、実験においても細胞膜に微細な穴が開いたことが考えられる。細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に至る細胞内シグナルについては、仮に感受メカニズムが細胞膜に開いた微細な穴だとすれば、細胞外の Ca^{2+} が細胞内に流入して直接細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇したと推測される。仮に感受メカニズムが別にあるとすれば、細胞膜近傍に存在する PLC⁽¹⁾や機械刺激応答性の Ca^{2+} チャンネル⁽²⁾が活性化した場合が推測される。

参考文献

- (1) Tsukamoto A et al., Cell Calcium 47 (2010) 253–263.
- (2) Hayakawa K et al., J Cell Sci. 15 (2008) 496–503.