

鍼療法により与えられる電氣的刺激が細胞の形態と活性変化に与える 影響に関する研究

加藤一夫

筑波技術大学 保健科学部 保健学科

キーワード：通電刺激、ストレスファイバー、接着斑、情報伝達

1. はじめに

あらゆる細胞は物理的な刺激を与えられると何らかの応答を示すことが知られている。例えば、音を感じる内耳の有毛細胞や、血管の内皮細胞は、それぞれ音や、血流刺激に応答し、細胞の形を変えることが知られている。また、筋肉線維の元となる筋芽細胞は短時間に機械刺激に対する応答を起こし、細胞の形態の変化とリン酸化タンパク質の変化が起こることが昨年までの著者の研究で明らかになった。しかしながら、鍼療法において、皮膚や筋肉に電氣的な刺激を与えた際の細胞レベルでの応答・反応や、細胞の形態変化、電気刺激特異的なタンパク質合成の制御に関してはほとんど明らかになっていない。本研究は、鍼療法における細胞の応答を細胞学生物学的に解析することにより、鍼療法による電氣的刺激が、様々な細胞に与える分子生物学的な影響を詳細に解析し、電気刺激が体細胞に与えるエビデンスを明らかにすることを目的とし、研究を進めた。

2. 方法

本研究では鍼治療による電気刺激を受けるであろうと考えられる培養系の皮膚の細胞（培養線維芽細胞 マウス NIH 3T3 ヒト線維芽細胞 FS-133; すでに入手, 培養確認済み）、筋原線維細胞（ヒト骨格筋の myoblast; L6; すでに入手, 培養確認済み）、および平滑筋細胞（ラット平滑筋細胞; すでに入手, 培養確認済み）を用いた。それぞれの細胞には、簡易型刺激装置（SEN-2201; 日本光電社製）によるシングルパルス通電刺激（以下、電気刺激とする）を与えることにより、細胞の形態変化を顕微鏡下で観察した。また、電気刺激を培養系細胞に与えるための装置は電子基板と白金線を用いたものを自作した。

周期的な電気刺激は実際に人の体に行われるものと同等の刺激パターンを、上述の培養系細胞に与えることにより再現する。細胞に与える電気刺激はできる限り通常的环境下で細胞を培養するが、生体内での細胞とは生育の環境が

異なるため、電気刺激のパターン、時間等は培養系細胞に適した様に調整を行う。細胞への刺激は様々な電気刺激の大きさ（例えば5,10,25,50ボルト程度）を周期的に細胞に与え、顕微鏡で観察しながら細胞の応答が最も強くなる電気刺激のパターンを決定した。この結果に基づき、細胞に電気刺激を与えたものと、コントロールとして刺激を与えなかった細胞の間で形態の変化および細胞内で発現しているタンパク質の変化を解析した。特に、細胞内の骨格構造であるストレスファイバーと接着斑は細胞の外部と内部とを繋ぐ構造として、様々な細胞刺激の伝達に関わっていることが予想される。本研究では、申請者が現在まで提唱している、「ストレスファイバーと接着斑が様々な刺激受容機構として機能」するという仮説をもとに、主としてこれらを構成するタンパク質の局在と形態の変化に着目し研究を進めた。

3. 結果と考察

電気刺激を培養系細胞に与えるための装置は電子基板と白金線を用いたものを自作し、電気刺激が確実に細胞に与えられることを確認し、良好な結果を得た。細胞の応答は通電刺激を与えたもののうち、培養線維芽細胞が顕著な構造の変化を起こすことが明らかになった。電気刺激のパターン、時間等は培養系細胞に適した様に調整を行ったが、線維芽細胞の場合、50ボルト程度を1秒間ごとに細胞に与えた細胞が顕著に細胞内の細胞骨格構造（ストレスファイバー、接着斑）に変化が現れることがわかった。また、通電刺激をそれぞれ30分、1時間、2時間、6時間、20時間、細胞に与えたところ、30分から1時間程度で細胞骨格系の増大が起こり始めた。通電刺激を2時間程度与えると、細胞内に分布する収縮装置であるストレスファイバーが太くなり、細胞が収縮している様子が確認できた。また、20時間の連続的な通電刺激を与えると、ストレスファイバーの数は変わらないが太さが増すことが観察された（図版1aとb参照）。また、ストレスファイバーの増強に伴って、2時間程度の通電刺

激を与えるとストレスファイバーの末端部に存在する細胞基質間接着装置（focal adhesion）が大きくなるのが確認でき、20 時間の連続的な通電刺激を与えると、ストレスファイバー、接着斑の両方がより太く、大きくなるのが確認できた（図版 2a と b 参照）。

通電による刺激が細胞内の構造、特に細胞骨格系に影響を与えるという現象は非常に興味深い事象である。しかしながら細胞の外部からの電気刺激が1つ1つの細胞にどのような道筋（ここでは細胞内の情報伝達経路）により、そのような現象が起こったのかは、大変重要な事柄ではあるが、現在までの研究では明らかにすることができなかった。来年度以降、鍼治療で与えられる通電刺激が個々の細胞に与える影響と、通電刺激による情報伝達関連タンパク質の活性化のメカニズムを明らかにするための研究を引き続き行なう予定である。

4. まとめ

通電刺激による刺激を培養系細胞に与えることにより、おもに細胞の形態変化を明らかにした。その結果、通電刺激を2時間程度与えると、細胞内に分布する収縮装置であるストレスファイバーが太くなり、細胞が収縮している様子が確認できた。また、20時間の連続的な通電刺激を与えると、ストレスファイバーの数は変わらないが太さが増すこと明らかになった。また、ストレスファイバーの増強に伴って、2時間程度の通電刺激を与えると細胞基質間接着装置（focal adhesion）が大きくなるのが確認でき、20 時間の連続的な通電刺激を与えると、ストレスファイバー、接着斑の両方がより太く、大きくなるのが確認できた。通電刺激が、細胞骨格構造に影響を与えることが明らかになった。

本研究は、平成29年度 筑波技術大学 教育研究等高度化推進事業（競争的教育研究プロジェクト A）研究費により行われた。

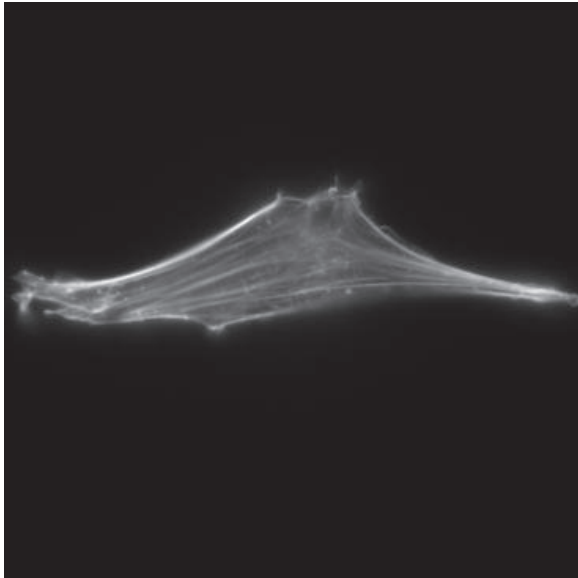


図1a 電気刺激を与えない培養線維芽細胞のストレスファイバーの分布を示す。

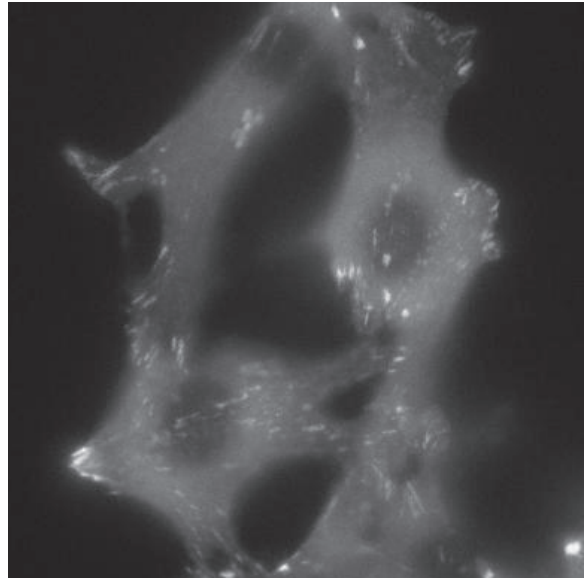


図2a 電気刺激を与えない培養線維芽細胞の接着斑の分布を示す。

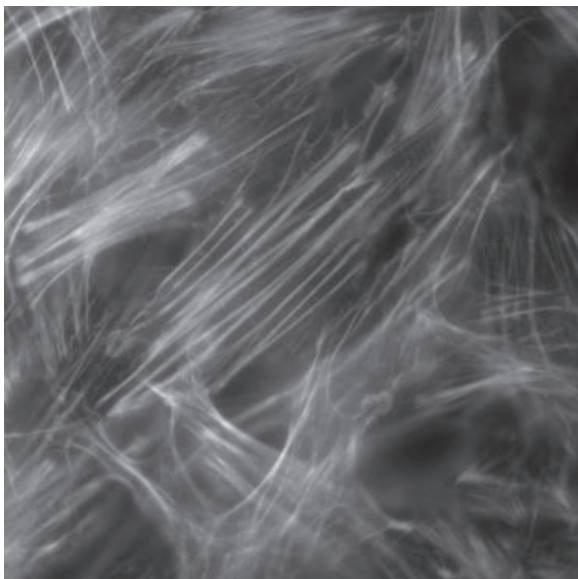


図1b 電気刺激を20時間与えた後の培養線維芽細胞のストレスファイバーの分布を示す。ストレスファイバーは顕著に増強する。スケール20 μ m

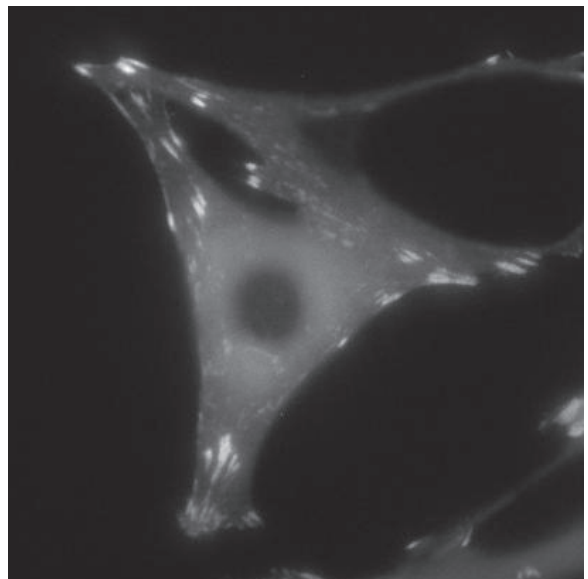


図2b 電気刺激を20時間与えた後の培養線維芽細胞のストレスファイバーの分布を示す。接着斑がは増大するのが観察された。図版1と図版2は同一の倍率である。図中のスケールは20 μ m