

AFM 細胞間接着力測定技術による腫瘍構成細胞間 相互作用の *in vitro* 解析

Analysis of intercellular interactions making up a tumor microenvironment
by using atomic force microscopy

東京農工大院工学府¹, 産総研バイオメディカル研究部門²

石橋 健太¹, 岡田 知子², 中村 史^{1,2}, ○金 賢徹^{1,2}

Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.¹, Biomed. Res. Inst., AIST²

Kenta Ishibashi¹, Tomoko Okada², Chikashi Nakamura^{1,2}, °Hyonchol Kim^{1,2}

E-mail: kim-hc@aist.go.jp

腫瘍微小環境はがん細胞をはじめとする様々な細胞で構成されており、これら細胞が相互作用することでがん進展が促進されると考えられている。腫瘍随伴マクロファージ (tumor associated macrophages, TAMs) は、一般的な炎症性マクロファージとは異なる免疫抑制的な性質を呈し、がん細胞と相互作用することで、がん細胞の増殖や転移を促進することが近年指摘されているが、その詳細な機構は未だ明らかになっていない。我々は、この相互作用によるがん細胞の転移能上昇に伴い、がん細胞間の接着力に生じる変化を明らかにするために、原子間力顕微鏡 (atomic force microscope, AFM) を用いて2細胞間の接着力を直接測定するアプローチから研究を進めてきた。

AFM カンチレバー側に細胞を固定化するために、細胞と同直径程度 (10-15 μ m) のニッケル製マイクロカップを作製し、マイクロマニピュレータを用いて、カンチレバー先端にエポキシを介して糊付けした「カップチップ」を作製した。このカップチップを基板上の細胞に接触させた後に引き上げることで、細胞をカップ内側窪み部分に捕捉した。この捕捉した細胞を別の細胞上にアプローチさせ、フォースカーブ測定を行うことにより、2細胞間の接着力を定量化した。

本研究では、TAM 様マクロファージ分泌物によるがん細胞への刺激供与の影響を調べるために、マクロファージを培養した培地上清をがん細胞培養培地中に添加することで、腫瘍微小環境におけるマクロファージ-がん細胞間相互作用の *in vitro* モデルとした。刺激供与前後でのがん細胞間接着力を比較した結果、マクロファージ分泌物刺激を受けたがん細胞間の接着力は上昇することが明らかになった。さらに、刺激を受けたがん細胞の弾性率は低下し、浸潤能は上昇することが明らかになった。加えて、デスモソームを介した細胞間接着に参与する分子のひとつであるプラコグロビンの発現量変化を免疫蛍光染色により調べた結果、刺激を受けたがん細胞内のプラコグロビン発現量が上昇することが分かった。以上の結果を総合すると、マクロファージ分泌物による刺激を受けたがん細胞は、細胞クラスター形成能と転移能の双方が上昇する可能性が考えられ、このモデルはクラスターを形成する血中循環がん細胞が多い患者ほど予後が悪いという従来知見を支持する。これらの結果はがん細胞間接着力の変化を定量比較測定したからこそ明らかになったものであり、カップチップを用いた本研究手法の有用性を示すものである。