

ナノニードルで解き明かすがん細胞のメカニクス

Cancer cell mechanics revealed with nanoneedles

産総研細胞分子工学¹, 東農工大院工² ○中村 史^{1,2}, 山岸 彩奈^{1,2}

CMB, AIST¹, Grad. Sch. Eng., TUAT², °Chikashi Nakamura^{1,2}, Ayana Yamagishi^{1,2}

E-mail: chikashi-nakamura@aist.go.jp

我々は AFM 探針を直径 200 nm、長さ 10 μm 以上の高アスペクト比の針状に加工したナノニードルを用いて細胞の解析を行う技術を開発してきた。抗体修飾したナノニードルを用いることで細胞内の中間径フィラメント (IF) の量を半定量的に評価する手法を開発した。またさらに抗体修飾ナノニードルを用いた繰り返し引張試験により IF の可動性を評価することで、がん細胞の浸潤における細胞骨格の機械的機能の一端を明らかにした。

IF の一種であるネスチンは、神経系幹細胞のマーカーとして知られるが、近年、悪性度の高いがん細胞において高発現であることが多くの論文で報告されている。我々の研究室でも、転移性が異なる 3 種のマウス乳がん細胞株に対して、抗ネスチン抗体を修飾したナノニードルを挿入し、抜去する際のフォースカーブから得られる抗原-抗体間の結合破断力 (Fishing force) を測定することで、生きた細胞内でネスチンの発現量の違いを半定量的に評価する技術を開発してきた。ネスチンとがん悪性度との関係は明白であるため、遺伝子治療標的としての研究は非常に多く報告されているものの、ネスチンの機能に関してはほぼ未知の状態であった。ネスチンは 170 kDa の巨大なテール領域を持つため単独では繊維を形成できず、使用しているマウス乳がん細胞株ではビメンチンと共重合している。ネスチンノックアウト (KO) 株を作出したところ、KO 株は元株と比較して浸潤性が低下し、細胞弾性率が上昇することが分かった。そこで我々はネスチンには細胞を柔軟化することで、細胞や組織間の間隙におけるがん細胞の浸潤性を向上させる働きがあると推察し、ネスチンによる細胞柔軟化メカニズムの解明に着手した。ネスチン共重合相手のビメンチンはテール領域でアクチンと結合することが報告されているが、骨格タンパク質間の結合は細胞弾性に寄与すると考えられる。ビメンチン-アクチン結合点の数を評価した結果、元株と比較して KO 株で結合点の増加が確認された。ネスチンテール領域は、立体障害的にビメンチン-アクチン間の結合を阻害することで細胞を柔軟化し、狭い隙間を通過しやすくすることで浸潤性の上昇に寄与すると推察される。ビメンチンの Fishing force を測定すると、元株と比較して KO 株のフォースカーブの形状に明瞭な違いがあることを発見した。この顕著な違いは、ネスチンとの共重合によりビメンチン繊維と細胞表層のアクチンの結合が損なわれることで、繊維が動きやすくなるためと考えられる。そこで、抗体修飾ナノニードルを用いビメンチンの繰り返し引張試験を行った。引張曲線とベースラインの交点における微分係数を解析した結果、KO 株の値が有意に大きく、KO 株のビメンチン繊維の可動性は低下していることが示された。このように、AFM とナノニードルを用いることで、生きた細胞の力学的解析が可能となる。細胞骨格の機能解明はその典型的な応用例であり、他にも様々な解析に適用可能であると考えている。