

補助事業番号 2022M-290

補助事業名 2022年度 機械伸展下における細胞内活性タンパク質計測システムの開発 補助事業

補助事業者名 九州大学 大学院工学研究院 機械工学部門 生体機能工学研究室 工藤奨

1 研究の概要

ガン促進物質とガン抑制物質に関して、細胞が伸展・収縮などの力学的な刺激をうけた場合の応答を計測するシステムを開発した。開発システムにより、ガン促進物質の計測を行うことが可能となった。また、ガン促進物質、抑制物質のメカニズムを解明するために癌細胞を用いて計測をおこなったところ、ガン細胞と正常細胞で力学的な刺激に対して応答が異なることがわかった。

2 研究の目的と背景

ガンの増殖や転移をおこなう特定の分子だけを狙い撃ちにする分子標的治療薬は、副作用が少ないことが期待され、細胞増殖に関連するタンパク質を標的として開発が進行中である。しかし、開発薬剤は培養細胞実験でガン阻害効果が高いが、動物実験では効果が出ない問題がある。開発薬剤に関して、細胞実験では化学物質の受容体を起点とした化学刺激活性に重点がおかれてきた。一方、生体内では、組織の硬さ、組織伸展・圧縮等が存在し、これら力学的な要因がガン増殖や転移に影響を及ぼすことが近年報告されはじめてきた。

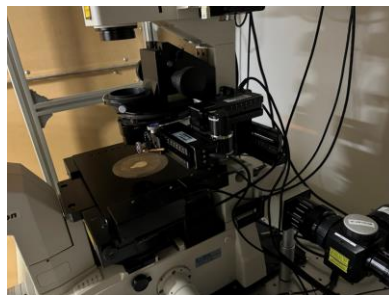
本研究では、ガン組織の力学刺激下の影響を測定するシステムを開発し、ガン促進に関与するタンパク質の活性を調べることで、従来までの化学刺激だけから得た知見とは異なるガン促進メカニズムを明らかにすることを目的とする。

3 研究内容

<https://www.bfe.mech.kyushu-u.ac.jp/2024/JKA/JKAReport.pdf>

(1) 機械伸展下における細胞内活性タンパク質計測システムの開発

細胞伸展・収縮のためのシリコンチャンバーを作製し、シリコンチャンバー上に細胞を培養した。細胞を培養したシリコンチャンバーを伸展装置に設置し細胞を伸展させ、顕微鏡上で伸展させた細胞を観察状態で、図に示すMicropointにより隣接細胞を損傷することで細胞を収縮させるシステムを開発した。

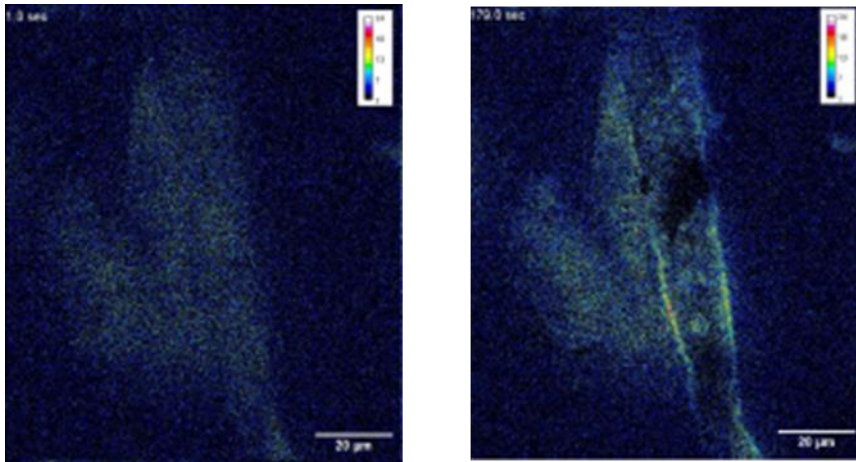


Micropointによるレーザー照射システム

(2) 力学刺激下でのPKC α 計測

観察対象であるPKC, YAP, PTENなどのガン関連物質の蛍光融合タンパク質の作製をおこない、シリコンチャンバー上の細胞に蛍光タンパク質を導入発現させた。シリコンチャンバーを伸展装置で伸展させ、Micropoint で隣接細胞を損傷させ、下図に示す様に観察細胞を収縮させることでPKC α の計測をおこなった。

また、詳細なメカニズム検討のため、マイクロピペットを用いた細胞変形をおこない、PKC, YAP, PTENの力学刺激下でのメカニズム解析をおこない、膀胱癌細胞を用いて力学刺激下でのPKC α の応答計測もおこなった。



Micropointによるレーザー照射により、PKC α が変化する様子。(左)照射前、(右)照射後

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

2021年ノーベル生理学・医学賞で細胞の力学センサーが受賞したように、細胞は外部の化学刺激だけでなく、力学刺激を感知し、力学感知が不完全な場合、疾病が発生することが明らかとなった。薬剤開発の過程では、今まで細胞の力学感知機構にはほとんど目が向けられてこなかった。ガンだけでなく、呼吸器疾患、心臓血管の疾患などは血流や呼吸などにより力学影響下にある。機械伸展刺激下で細胞内タンパク質活性を計測するシステムは、ガンだけでなく様々な疾病においても有効に活用され、新規治療法や検出法への展開が期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

研究代表者(九州大学 工藤奨)は、これまで細胞の力学応答に関する研究をおこなってきた。本研究では、ガン促進および抑制タンパク質に絞り、その力学応答測定のためのシステム開発および計測をおこなった。また、本研究では医療応用を見据え、九州大学大学院医学研究院との共同体制構築を進めることで、新規ガン検出方法システム開発に取り組んだ。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

【論文】

1. Saori SASAKI, Zhaoyi DU, Ryu TAKAHASHI, Qi SUN, Tatsuya SATO, Toshihiro SERA, and Susumu KUDO

The effect of stiff substrates on the collective migration of A549 cells, *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, Volume 18 Issue 4 Pages 23–00298, 2023, 10.1299/jbse.23–00298

2. Quanzhi LU, Saori Sasaki, Toshihiro Sera, and Susumu Kudo

Spatiotemporal distribution of PTEN before directed cell migration in monolayers, *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal* (accepted)

3. Shigesato Inoue, Junpei Nagao, Kouhei Kawamoto, Keiko Kan-o, Satoru Fukuyama, Saori Sasaki, Susumu Kudo, Isamu Okamoto, and Toshihiro Sera

Stretch Alters the Actin Cytoskeleton and Intracellular Trafficking in Overstretching alveolar epithelial type II cells decreases surfactant secretion via actin polymerization and intracellular trafficking alteration, *Heliyon* (under review and revising)

【学会発表】

1. 北川智晃, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 力学場変化時の PKC α の応答解析, 日本機械学会第34回バイオエンジニアリング講演会, 2022.06.

2. 肖博元, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 隣接細胞損傷時における細胞骨格が YAP 動態に及ぼす影響について, 日本機械学会第34回バイオエンジニアリング講演会, 2022.06.

3. 森岡真悠, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, Keratin 構造の違いによる PKC α 局在への影響, 日本機械学会第34回バイオエンジニアリング講演会, 2022.06.

4. 盧泉至, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, PIP3およびPTENの移動現象に及ぼす細胞間張力の影響, 第33回バイオフィロンティア講演会, 2022.12.

5. 尾崎郁美, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 細胞微小変形時のモータータンパク質の挙動, 第46回日本バイオレオロジー学会年会, 2023.06.

6. 森岡真悠, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, PKC α 局在時におけるKeratin構造の影響, 第46回日本バイオレオロジー学会年会, 2023.06.

7. 楊井威信, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 力学刺激下における変異型PKC α の時空間分布計測, 日本生理人類学会第84回大会, 2023.06.

8. Susumu Kudo, Effect of mechanical stimuli on intracellular protein localization, 6th Japan–Switzerland Workshop on Biomechanics (JSB2023), 2023.08.

9. Boyuan Xiao, Saori Sasaki, Toshihiro Sera, Susumu Kudo, YAP dynamics during adjacent cell wound, 6th Japan–Switzerland Workshop on Biomechanics (JSB2023), 2023.08.
10. Quanzhi Lu, Saori Sasaki, Toshihiro Sera, Susumu Kudo, PTEN translocation in response to the unloading of intercellular tension, 6th Japan–Switzerland Workshop on Biomechanics (JSB2023), 2023.08.
11. 小野瀬 孝一, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 細胞間接着剥離におけるPKCアイソフォーム細胞内移動現象の違い, 第34回日本機械学会バイオフィロントニア講演会, 2023.12.
12. 肖 博元, 佐々木沙織, 世良俊博, 工藤奨, 隣接細胞損傷時におけるImportin- β のYAP核移動現象に及ぼす影響, 第34回日本機械学会バイオフィロントニア講演会, 2023.12.

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

研究成果報告書 (<https://www.bfe.mech.kyushu-u.ac.jp/2024/JKA/JKAReport.pdf>)



(2)(1)以外で当事業において作成したもの
該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 九州大学 大学院工学研究院学部

(キュウシュウダイガクダイガクインコウガクケンキュウイン)

住 所: 〒819-0395

福岡県福岡市西区元岡744

担 当 者: 教授 工藤奨(キョウジュ クドウ ススム)

担 当 部 署: 機械工学部門(キカイコウガクブモン)

E - m a i l: kudo.susumu.237@m.kyushu-u.ac.jp

U R L: <https://www.bfe.mech.kyushu-u.ac.jp/>