

磁性ナノ粒子と磁場による初期エンドソーム膜損傷の制御

Magnetic control of membrane damage in early endosomes by internalized magnetic nanoparticles

岩手大学理工学部 芝 陽子



哺乳動物細胞には膜で囲われた様々な細胞小器官(オルガネラ)が存在し、タンパク質や脂質などの積荷はオルガネラ間を輸送されている。細胞外から入ってくる積荷は、細胞膜が陥入して取り込むエンドサイトーシスによって取り込まれ、初期エンドソームへ輸送される。初期エンドソームが後期エンドソーム、リソソームと成熟するに伴い、積荷はリソソームへ輸送されて分解される。病原体や薬剤などもこの分解経路を通るが、病原体はエンドソームから細胞質へ脱出し、そこで増殖することが多い。毒性を抑えるためにドラッグデリバリーシステム(DDS)なども pH の低いエンドソームで薬剤を放出する設計が行われているが、エンドソーム脱出の効率は 1-3% と極めて低く、エンドソーム脱出の理解は DDS の効率化にとっても重要である。

本研究では、生体適合性を持ち、磁場応答性のある磁性ナノ粒子(Fe_3O_4)を用いて、磁場の印加によるエンドソーム膜の物理的損傷と脱出可能性について検討した。10-15nm の Fe_3O_4 磁性ナノ粒子を熱分解法により作製し、Polyglycidol で表面修飾を行い、FITC をつけ、最終的に 20nm 程度のサイズになった磁性ナノ粒子を得た。この磁性ナノ粒子をヒト乳がん細胞 MCF7 に取り込ませ、初期エンドソームマーカー EEA1 およびリソソームマーカー Lamp1 との共局在解析を共焦点顕微鏡を用いて行ったところ、20-40 分で初期エンドソーム、60 分以降でリソソームへ磁性ナノ粒子が移行することがわかった。

磁性ナノ粒子取り込み後、20 分のタイミングで、最大 20mT の直流と交流磁場を磁気ヨークを用いて印加したところ、直流磁場 5 分の印加で、膜損傷マーカー Galectin-3 (Gal3) と磁性ナノ粒子との共局在が観察された。また、損傷膜を修復する ESCRT 複合体の構成因子 CHMP4B、および膜損傷時に細胞質側に露出するフィンゴミエリンに結合する Eqt-SM も磁場印加後に磁性ナノ粒子と共局在したため、直流磁場 20mT、5 分で膜が損傷することが示唆された。一方、オートファジーマーカー LC3 も解析を行ったが、磁性ナノ粒子との共局在は観察されなかった。

さらに、より強い直流磁場で膜損傷を誘導するため、ネオジム磁石で 100mT、5 分の磁場の印加を印加したところ、Gal3 と磁性ナノ粒子、EEA1 の三者の共局在の増加が観察された。このことから磁性ナノ粒子が直流磁場によって初期エンドソームを特異的に損傷できることが示唆された。磁性ナノ粒子と Lamp1、Gal3 の三者の共局在も調べたが、共局在の増加が観察されず、この条件ではリソソームは損傷していないことが示唆された。

ネオジム磁石で 300mT の直流磁場で 20 分印加すると、EEA1 と Gal3 の共局在は増加したが、EEA1 と Gal3 の共局在する初期エンドソームへの磁性ナノ粒子の局在は低下した。CHMP4B の共局在も調べたが、100mT、5 分では磁性ナノ粒子と CHMP4B の共局在が増加したが、300mT、20 分ではその共局在が低下した。これらの結果から、100mT より強く 5 分以上の長時間の磁場の印加では、磁性ナノ粒子が損傷した膜付近から離脱したのではないかと考えている。今後は磁性ナノ粒子が細胞質へ脱出したのかどうか、透過型電子顕微鏡やイメージング等で明らかにしていく予定である。

【キーワード】 磁性ナノ粒子、エンドソーム、膜損傷

【参考文献】

• Magnetic control of membrane damage in early endosomes using internalized magnetic nanoparticles, Yuta Yonekawa, Kazuki Oikawa, Boldbaatar Bayarkhuu, Kizuna Kobayashi, Nana Saito, Ibuki Oikawa, Ryohei Yamada, Yu-han Chen, Koichi Oyanagi, Yuji Shibasaki, Satoru Kobayashi, and Yoko Shiba, *Cell Structure and Function*, 50, 25–39, 2025