

細胞外微粒子に起因する生命現象の解明と
その制御に向けた基盤技術の創出
平成29年度採択研究代表者

2018年度 実績報告書

秋吉 一成

京都大学大学院工学研究科
教授

糖鎖を基軸とするエクソソームの多様性解析と生体応答・制御のための基盤研究

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、これまでにほとんど解明されていないエクソソーム膜糖鎖の構造多様性と機能に関する研究を推進し、エクソソームの糖鎖科学の進展が、その分離、計測、解析技術などの基礎研究からその応用研究において革新をもたらしえる端緒となることを明らかにする。エクソソームの多様性を表す指標としてのエクソソーム表層糖鎖に着目し、その糖鎖プロファイリング技術の確立と糖鎖基盤分離システムの開発を行う。さらに、表層糖鎖の情報をコードしたエクソソームの新規サブクラス分類手法を提案し、エクソソーム糖鎖を介したシグナル伝達・生理機能の分子メカニズム解析とその制御のための基盤技術開発研究を推進している。

様々な細胞系、分化過程、分離手法により、エクソソームを含む細胞外小胞表層の糖鎖のプロファイルが顕著に変化することが、提案しているレクチンアレイ糖鎖解析により明らかになった。エクソソームの多様性、不均一性の新規指標として表層糖鎖が有用であることが実証されつつある。例えば、がん細胞エクソソームと正常細胞エクソソームでは大きく糖鎖プロファイルが異なることやヒトiPS細胞エクソソームは、非ヒトiPS細胞エクソソームとは異なる糖鎖プロファイルを示すことがわかった。ヒトiPS細胞エクソソームにはヒトiPS細胞マーカーが提示されていることがわかり、その表層は由来する細胞表層糖鎖を反映すると考えられた。また、間葉系幹細胞が骨芽細胞に分化する過程で産生されるエクソソームの糖鎖プロファイルが変化し、分化マーカーとなり得ることを明らかにしている。さらに、血清からエクソソームを精製する方法を検討し、健常者及び各種疾患患者由来血清から精製したエクソソームの糖鎖プロファイリングを検討している。

これらの知見をもとに、大きな細孔を有するスポンジモリス担体に種々のレクチンを固定化したカラムを作製し、糖鎖を基盤とする細胞外小胞の表層糖鎖による分離精製手法を開発している。エクソソーム表層のアニオン性の特性を利用した高純度エクソソーム精製法も確立しつつある。

エクソソーム糖鎖を介した生体応答機能の解析では、がん関連糖脂質発現細胞エクソソーム系を用いて、その組成を非発現細胞由来のそれと比較するとともに、マウスがんモデル実験系がん細胞

胞の高転移性亜株と低転移性亜株由来エクソソームの組成と機能解析を行っている。がん関連糖脂質の発現細胞エクソソームが、元の細胞でのインテグリン発現レベルに比較して著明に高レベルのインテグリンを含有することが判明し、がん転移への関与が示唆された。さらに、がん関連糖脂質の糖鎖の違いによって、異なったがん形質の形成に関与することが明らかになり、がん転移におけるがん由来エクソソームの糖脂質の機能とその重要性が注目される。

【代表的な原著論文】

1. S. Saito, K. Hiemori, K. Kiyoi, H. Tateno, “Glycome analysis of extracellular vesicles derived from human induced pluripotent stem cells using lectin microarray”, *Sci. Rep.*, 8, 3997, 2018
2. Y. Ohmi, M. Kambe, Y. Ohkawa, K. Hamamura, O. Tajima, R. Takeuchi, K. Furukawa, K. Furukawa, “Differential roles of gangliosides in malignant properties of melanomas”, *PLOS One* 13:e0206881, eCollection, 2018
3. M. Ando, S. Shikura, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, “Proteoliposome Engineering with Cell-free Membrane Protein Synthesis: Control of Membrane Protein Sorting into Liposomes by Chaperoning Systems“, *Adv. Sci.*, 5, 1800824, 2018

§ 2. 研究実施体制

(1) 京大(秋吉)グループ

- ① 研究代表者:秋吉 一成 (京都大学大学院/工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・エクソソーム表層の糖鎖プロファイリング手法の確立
 - ・エクソソーム糖鎖の多様性に基づく分離、分類手法の確立と機能制御法の開発

(2) 産総研グループ

- ① 主たる共同研究者:平林 淳 (産業技術総合研究所 特任上席研究員)
- ② 研究項目
 - ・レクチン工学を基盤としたエクソソーム糖鎖解析技術の開発

(3) 三重大グループ

- ① 主たる共同研究者:瀬尾 尚宏 (三重大学大学院医学系研究科 特任講師)
- ② 研究項目
 - ・免疫細胞エクソソームの生体応答解析

(4) 中部大グループ

- ① 主たる共同研究者:古川 鋼一 (中部大学生命健康科学部 教授)
- ② 研究項目
 - ・糖脂質リモデリングがん由来エクソソームの生体応答解析

(5) 京大(大塚)グループ

- ① 主たる共同研究者:大塚 浩二 (京都大学大学院/工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・糖鎖認識に基づくエクソソームの高選択分離法の開発