

2018年度採択研究代表者

華山力成

金沢大学新学術創成研究機構ナノ生命科学研究所
教授

微粒子による生体応答の相互作用の解明と制御

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、エクソソーム検出法やエアロゾル分級法など、我々が持つ微粒子解析技術を更に高度化するとともに、生体内における解析技術を新たに創出することで、エクソソームやエアロゾルに対する生体応答に共通する原理の発見や、両者の相乗効果による生命現象を解明し制御することを目指す。本年度は前年度に引き続き、エクソソームとエアロゾル解析の基盤となる技術開発に取り組んだ。

● 一細胞由来エクソソームの高精度・高感度解析技術の開発

エクソソームの高感度検出に用いている Tim4 を改変することで、更に 10 倍以上の高感度化技術を開発した。この技術を応用して、金ナノピラープラズモン基板に Tim4 を高密度・高活性の状態 で固定化することで、局在表面プラズモン共鳴によるエクソソーム検出の高感度化に成功した。

● エクソソーム生成の分子機構の解明

エクソソームの分泌を制御する主要分子を同定し、この分子を手掛かりとして、エクソソームが脳腫瘍や骨肉腫の進展(浸潤・転移)を制御する分子機構を明らかにした。また、Tim4 を用いたスクリーニングにより、エクソソームの分泌量を 5 倍に増加させる薬剤を同定し、特許出願を行った(特願 2019-071759)。

● 細胞特異的エクソソーム解析用マウスの開発

上記のエクソソーム分泌に関わる主要分子を細胞特異的に欠損させた遺伝子改変マウスでは、細胞の生存に障害がある可能性が判明した。よって、細胞の生存に影響を与えずに、エクソソームの分泌を抑制する変異体を同定し、新たなマウスの作製を開始した。

● エアロゾルの生体内解析技術の開発

大気中微粒子(エアロゾル)の細胞応答を解析するツールとして、独自の分級・捕集技術を用いた微粒子の細胞曝露システムを構築し、①実大気粒子の粒径別化学成分の解析、②サイズや化学組成等が厳密に制御された模擬微粒子(モデル粒子)の作製を行った。さらに、③微粒子の細胞曝露システムを完成させて、in vitro での細胞応答実験を開始した。具体的には、マウス肺胞マクロファージ細胞(MH-S)へのモデル粒子(無機炭素および金属ナノ粒子)の投与実験による細胞毒性および免疫応答の評価ならびに、各種顕微鏡による微粒子の細胞応答追跡を行った。

● 細胞による対微粒子応答の解明

パーキンソン病の原因であるシヌクレインは、フィブリル(線維)状に異常凝集し、細胞外微粒子として細胞から細胞へ伝播し伝わっていく。実際の患者に蓄積しているシヌクレイン・フィブリルの性質を調べる為、マイクロビームX線回折法を用いて直接的な微細構造解析を行ったところ、クロスβ構造を規則的に持つアミロイド線維であることが明らかとなった。

【代表的な原著論文】

1. Taishi Tsutsui, Hironori Kawahara, Ryouken Kimura, Yu Dong, Shabierjiang Jiapaer, Hemragul Sabit, Jiakang Zhang, Takeshi Yoshida, Mitsutoshi Nakada and Rikinari Hanayama, “Glioma-derived extracellular vesicles promote tumor progression by conveying WT1”, *Carcinogenesis*, in press, 2020, doi: 10.1093/carcin/bgaa052
2. Katsuya Araki, Naoto Yagi, Koki Aoyama, Chi-Jing Choong, Hideki Hayakawa, Harutoshi Fujimura, Yoshitaka Nagai, Yuji Goto, and Hideki Mochizuki, “Parkinson’s disease is a type of amyloidosis featuring accumulation of amyloid fibrils of α -synuclein”, *Proc Natl Acad Sci USA*. vol.116, No.36, pp.17963-17969, 2019, doi: 10.1073/pnas.1906124116

2. 研究実施体制

(1) 華山グループ

① 研究代表者: 華山 力成 (金沢大学新学術創成研究機構ナノ生命科学研究所 教授)

② 研究項目

(A1) 一細胞由来エクソソームの高精度・高感度解析技術の開発

(A2) エクソソーム生成の分子機構の解明

(A3) 細胞特異的エクソソーム解析用マウスの開発

(C1) 微粒子の生体内動態・応答の解明

(C2) 細胞による対微粒子応答の解明

(C3) 対微粒子応答とその相互作用の制御法の開発

(2) 瀬戸グループ

① 主たる共同研究者: 瀬戸 章文 (金沢大学理工研究域 教授)

② 研究項目

(B1) エアロゾルの生体内解析技術の開発

(C1) 微粒子の生体内動態・応答の解明

(C3) 対微粒子応答とその相互作用の制御法の開発

(3) 望月グループ

① 主たる共同研究者: 望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 教授)

② 研究項目

(A2) エクソソーム生成の分子機構の解明

(C1) 微粒子の生体内動態・応答の解明

(C3) 対微粒子応答とその相互作用の制御法の開発