

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

2018年度採択研究代表者

2021年度 年次報告書
-----------------

鈴木健一

岐阜大学糖鎖生命コア研究所

教授

高精度 1 分子観察によるエクソソーム膜動態の解明

## § 1. 研究成果の概要

がん細胞由来の細胞外小胞(エクソソーム)は、他臓器の細胞に取り込まれた後に、がん細胞が転移しやすい環境を形成すると言われている。エクソソームと標的細胞との結合には、インテグリンと細胞外マトリックスが関与し、エクソソーム膜上のインテグリンの種類が、標的細胞を決めると報告されているが、直接的な証拠がなかった。一方、エクソソーム膜には、ラフト脂質、中でも糖脂質ガングリオシドが濃縮していて、インテグリン活性を制御することが知られている。しかし、エクソソームに関する分子レベルの機構は不明である。本研究では、エクソソームと標的細胞の結合、取り込み機構、取り込み後のエクソソーム由来分子の機能発現を解明する。

今年度、鈴木 G は、超解像・1分子観察顕微鏡と独自に開発した解析法により、がん細胞由来エクソソーム中の4つのインテグリン subunit が標的細胞上の細胞外マトリックスとの結合能を担うことを証明した。また、エクソソーム直下の標的細胞膜には、インテグリンが集積し、ラフト環境が形成されていることを明らかにした。また、安藤 G が開発した光反応性基を結合させたガングリオシド蛍光プローブを用いた実験により、細胞膜でもエクソソーム膜でも GM3 がインテグリン b1 とシアル酸を介して相互作用すること、脂肪酸を介してテトラスパニンと相互作用することを明らかにした。花島 G は、固体 NMR 解析により、エクソソーム膜にはラフト様ドメインが存在すること、エクソソーム中のコレステロール除去により、標的細胞への結合能が低下すること、GM3 はインテグリントリガンド結合部位付近で結合することを明らかにした。また、木塚 G は、がん細胞由来エクソソームは、N 型糖鎖の高分岐化を促す糖転移酵素 GnT-V を濃縮し、標的細胞に取り込まれた後にも、標的細胞中の高分岐型 N 型糖鎖を増加させることを見出した。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 鈴木グループ

① 研究代表者: 鈴木 健一 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 教授)

#### ② 研究項目

- ・高精度 1 分子イメージングによるエクソソームの結合・取り込み機構の解明
- ・エクソソーム膜物性のイメージング

### (2) 安藤グループ

① 主たる共同研究者: 安藤 弘宗 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 教授)

#### ② 研究項目

- ・脂質・糖脂質プローブの合成

### (3) 花島グループ

① 主たる共同研究者: 花島 慎弥 (大阪大学大学院理学研究科化学専攻 准教授)

#### ② 研究項目

- ・エクソソーム膜脂質の NMR 解析

### (4) 木塚グループ

① 主たる共同研究者: 木塚 康彦 (岐阜大学糖鎖生命コア研究所糖鎖分子科学研究センター 准教授)

#### ② 研究項目

- ・エクソソーム膜上の N 型糖鎖の Glycomics と糖鎖構造の改変技術の開発

## 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Effect of cholesterol on the lactosylceramide domains in phospholipid bilayers”, Biophysical Journal, vol. 121, Issue 7, pp. 1143–1155, 2021