

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

華山力成

金沢大学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、我々が持つエクソソームやエアロゾルに関する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創出することで、両者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している。本年度は、中間評価までの目標として掲げていた下記の課題を予定通り達成した。

A. エクソソーム解析技術の高度化と生成機構の解明

Tim4 によるエクソソームの高感度検出法を用いて、高効率に細胞から分泌されるエクソソーム量の増減を測定する方法を開発し、1,600 種類の既存薬化合物ライブラリーの中から、エクソソームの分泌を抑制する化合物 1 種類、促進する化合物 8 種類を新たに同定した。それぞれ、連携企業とともに国際特許出願を行っている。更に、Tim4 による高感度検出法を用いて、エクソソーム生成を制御する主要分子として TSG101 を同定した。この分子の欠損によりエクソソーム放出を細胞特異的に阻害するモデルマウスを作製し、骨肉腫や白血病の進展におけるエクソソームの新たな機能を明らかにした。加えて、血液中に存在するエクソソームがトランスサイレチンアミロイドの凝集化や細胞への沈着を促進することを見出し、家族性アミロイドーシス発症機序の新たなモデルを提唱した。

B. エアロゾルの分級・捕集および追跡法の確立

様々な環境下の実大気を分級・捕集し、エアロゾル化学成分のサイズ依存性を明らかにする手法を確立し、この情報をもとにモデル粒子を設計した。このエアロゾル化の為に噴霧乾燥装置を開発し、これを荷電・分級・凝縮成長・細胞曝露装置と組み合わせたエアロゾル細胞曝露システムを構築した。更に、エアロゾルへの細胞応答に与えるサイズ・化学組成依存性・動態・応答機序を解明するツールとして気液界面における細胞培養系を構築した。

§ 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

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Osteosarcoma-derived small extracellular vesicles enhance tumor metastasis and suppress osteoclastogenesis by miR-146a-5p”, *Frontiers in Oncology*, vol. 11, pp.667109, 2021
- 2) “Identification of small compounds regulating the secretion of extracellular vesicles via a TIM4-affinity ELISA”, *Scientific Reports*, vol. 11, No. 1, pp.13471, 2021
- 3) “Water-based particle size magnifier for wet sampling of aerosol particles”, *Aerosol Science and Technology*, vol. 55, No. 11, pp.1239-1248, 2021
- 4) “Extracellular Vesicles Contribute to the Metabolism of Transthyretin Amyloid in Hereditary Transthyretin Amyloidosis”, *Frontiers in Molecular Biosciences*, vol. 9, pp.839917, 2022
- 5) “Structural and mechanical characteristics of exosomes from osteosarcoma cells explored by 3D-atomic force microscopy”, *Nanoscale*, vol. 13, No. 13, pp.6661-6677, 2021