

※本資料は、文部科学記者会、大学新聞社、教育学術新聞社、八王子記者クラブ、薬事日報社へ配布しています。

世界初!!人工細胞膜とエクソソームの膜融合の観察に成功

～細胞間コミュニケーションの解明に大きく前進～

東京薬科大学薬学部 生体分子化学教室の東海林敦准教授の研究チームは、世界で初めてペプチドチャンネルを利用することによりエクソソームと人工細胞の膜融合を観察する方法を開発しました。これにより、がんの転移などエクソソームが関連している疾患の発症メカニズムやエクソソームを利用する診断および治療の発展に貢献することが期待されます。

【ポイント】

- エクソソーム膜融合により、人工細胞膜内に包埋されたグラミシジンのチャンネル活性が変調されることを発見しました。
- 人工細胞膜とエクソソームの膜融合をリアルタイムかつノンラベルで観察する方法を構築しました。
- 本アッセイ法では、自由に pH などの外部環境や膜タンパク質を含む脂質膜組成を設定できることから、未解明である細胞膜とエクソソームの膜融合の理解に役立ち、細胞間の情報伝達に関する新しい知見を提供できるものとして期待されます。

【概要】

全ての細胞から放出されるエクソソームは、直径が 50-200 nm 程度の細胞外小胞であり、選択的に特定の細胞によって取り込まれます。それにより、その細胞の機能が変化してしまうことから、エクソソームは離れた細胞間における情報伝達のツールとして機能するものと認識されています。エクソソームの取り込み機構としてエンドサイトーシスが盛んに研究されています。同様に、細胞膜とエクソソームの膜融合を介した細胞内への取り込みのメカニズムも盛んに議論されていますが、細胞とウイルスないしは細胞間の膜融合により得られた知見をもとに予測しているにとどまり、実験的に得られた結果に基づいておりません。これは、細胞とエクソソームの膜融合を評価できる分析方法が未成熟であることが要因となっています。

私たちの研究グループでは、二量体形成時に一価の陽イオンチャンネルとして機能するグラミシジンを用い

エクソソームの膜融合とともに、
グラミシジンの包埋数が増加

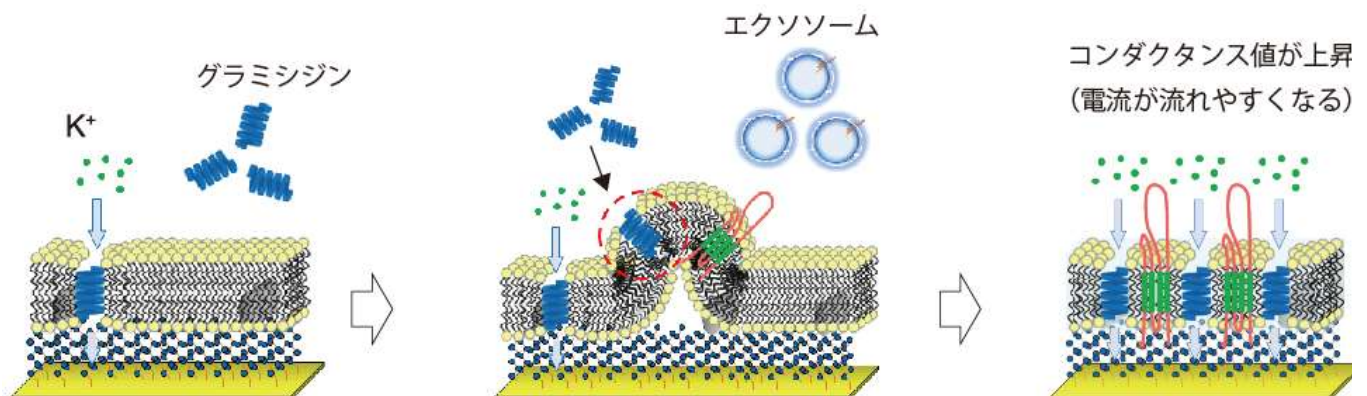


図1. エクソソーム膜融合によるグラミシジンのチャンネル活性増強現象

ることで、電気化学的にエクソソームの膜融合を評価できる方法を構築しました。この方法では、細胞膜のモデルとして金電極に形成された支持脂質二分子膜（人工細胞膜）を用いています。私たちは、人工細胞膜と膜融合するエクソソームの数が増えるにつれて、グラミシジンが人工細胞膜に包埋されやすくなり、見かけ上、グラミシジンのチャンネル活性が上昇する現象を発見しました（図 1）。この現象を利用することで、図 2 に示すような簡単な手順で、人工細胞膜とエクソソームの膜融合を評価できるアッセイ法を構築しました。まず人工細胞膜を形成させた後、グラミシジンとエクソソームを順次添加します。エクソソームの膜融合の度合いに応じて、人工細胞膜内のグラミシジンチャンネル数が増加するので、チャンネルを介して電流が流れやすくなります（コンダクタンス値の上昇）。

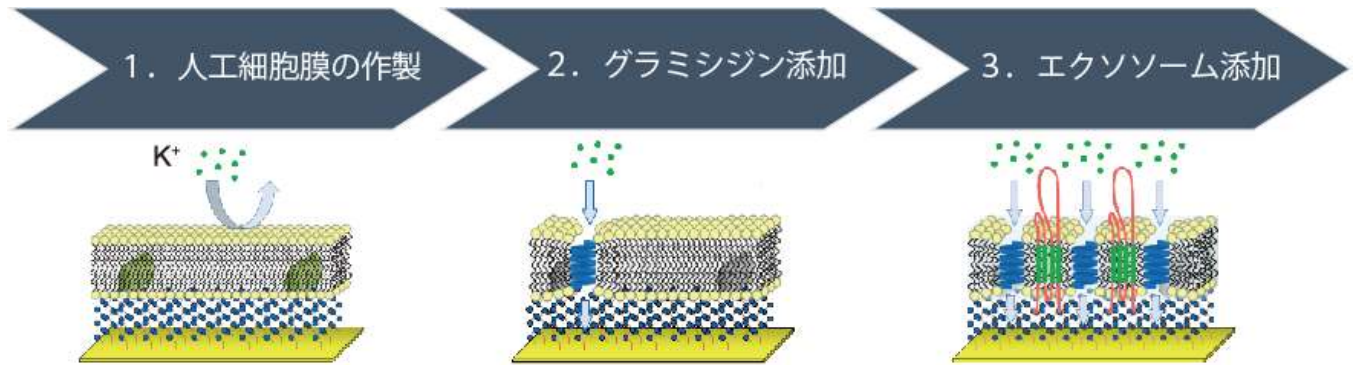


図 2. 人工細胞膜とエクソソームの膜融合アッセイ法の手順

構築したエクソソーム膜融合アッセイ法では、下記のような特徴があります。

1. 人工細胞膜を用いているため、pH などの外部環境や膜タンパク質を含めた脂質膜組成を自由に設定可能です。つまり、人工細胞膜とエクソソームの膜融合を分子レベルで評価することができます。
2. 膜流動性が高いほど膜融合しやすいものと予想されますが、本法では、アッセイ時にエクソソーム膜を構成する脂質分子の流動性を変調することはありません。
3. 数 100 程度の個数のエクソソームで膜融合を評価できます（世界最高感度）。

構築したアッセイ法により、放出元の細胞種（正常細胞と腫瘍細胞の違いなど）や pH 環境下で人工細胞膜とエクソソームの膜融合が大きく異なることがわかってきました。非特異的でなく、細胞膜とエクソソームが選択的に膜融合することを示唆する重要な知見となります。エクソソーム膜融合メカニズムを解明する一助となり、細胞間情報伝達の仕組みを理解するのに役立つものと期待されます。エクソソームを介した細胞間コミュニケーションの理解は、がんの転移を初めとして様々な疾患に必須です。本アッセイ法は、これら疾患の発症メカニズムの解明のみならず、エクソソームをターゲットとした治療薬の開発や、診断・治療技術の発展に貢献できるものと期待されます。

この研究成果は、東海林敦准教授と社会人博士課程の西尾将人氏（バイオリサーチセンター株式会社）が中心となる研究グループにより、本学の生体分析化学教室で得られたものあり、Elsevier 社から発行されている *Biosensors and Bioelectronics* で公開されています。

Real-time assay for exosome membrane fusion with an artificial lipid membrane based on enhancement of gramicidin A channel conductance.

Masato Nishio, Yurina Teranishi, Kazuhiro Morioka, Akio Yanagida and Atsushi Shoji.

Biosensors and Bioelectronics, 150, 11918 (2020)

【取材に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 総務部広報課 TEL:042-676-6711 mail:kouhouka@toyaku.ac.jp

【研究に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 薬学部生体分析化学教室 准教授 東海林敦
TEL:042-676-4544 mail:ashoji@toyaku.ac.jp