



2023年6月27日

報道関係者各位

慶應義塾大学薬学部

細胞間の情報伝達の重要な役割を担うと考えられている 「エクソソーム」を温度制御だけで分離精製する技術を開発 ーエクソソームを用いた診断や治療の革新的な効率化に期待ー

慶應義塾大学薬学部 長瀬健一准教授を中心とする研究グループは、温度制御のみでエクソソームを分離精製する技術を開発しました。

エクソソームは、細胞から分泌される直径 30~100 nm 程度のナノ粒子で、分泌細胞由来の核酸やタンパク質などを保有しており、細胞間の情報伝達の重要な役割を担っていると考えられています。近年、エクソソームの有する生物学的な機能が注目され、診断マーカーやドラッグデリバリーシステム(DDS)、再生医療、化粧品などへの応用が期待されています。

本研究では、温度変化に応答して性質を変化させる高分子と、エクソソームに対して特異的な親和力を有するペプチドをシリカ微粒子に修飾した機能性微粒子を作製しました。この機能性微粒子は温度 37°C でエクソソームを捕捉することができ、さらに温度を 4°C に下げることによって、マイクロ粒子に捕捉していたエクソソームを脱離させ回収することができます。

このように、本研究で提案するエクソソームの分離精製法は、温度制御だけで目的のエクソソームを簡便に分離精製できるので、エクソソームを用いた診断や治療の革新的な効率化が期待できます。

本研究成果は、2022年12月11日に国際学術誌『Materials Today Bio』に掲載されました。

1. 本研究のポイント

- ・機能性高分子と、エクソソームと特異的な親和力を有するペプチドを修飾したシリカ微粒子を開発
- ・温度制御のみでエクソソームの精製を実現
- ・エクソソームを用いた研究、診断、治療などの効率化の可能性

2. 研究の背景

エクソソームは、細胞から分泌される直径 30~100 nm 程度のナノ粒子で、分泌細胞由来の核酸やタンパク質などを保有しており、細胞間の情報伝達の重要な役割を担っていると考えられています。近年、エクソソームの有する生物学的な機能が注目され、様々な診断、治療応用が研究されています。例えば、病因細胞由来のエクソソームには、病因細胞で特異的に発現している核酸、タンパク質が包含されているため、体液中に含まれるエクソソームを用いた診断が行われています。また、核酸やタンパク質を細胞に運ぶ役割を持っているので、細胞にこれらを送達するドラッグデリバリーシステム(DDS)における薬物キャリアとしての機能が注目されています。さらに、間葉系幹細胞から分泌されたエクソソームが様々な治療効果を担っていることが明らかになりつつあり、間葉系幹細胞から分泌されたエクソソームを用いた再生医療が新たな治療法として注目を集めています。この様にエクソソームの様々な診断、治療応用が期待されています。

上記したエクソソームを活用するためには、細胞にエクソソームを分泌させ、目的のエクソソームを様々な夾雑物や夾雑エクソソームから分離精製する方法が必要となります。超遠心による分離^(注1)やサイズ排除分離^(注2)、免疫沈降による分離^(注3)など様々なエクソソームの分離精製法が開発されていますが、分離純度が不十分な点や、不純物の混入が起こるなどの問題がありました(図1)。そこで、エクソソームを簡便に効率良く分離する精製法が求められています。



図1 エクソソームの機能と既存の分離精製法

3. 研究の内容・成果

本研究では温度応答性高分子と、エクソソームに対して特異的な親和力を有するペプチドを用いて機能性微粒子を開発しました。温度応答性高分子は温度に応答して低温では伸長し、高温では収縮します(図 2 (a))。また、エクソソーム親和性のペプチドはがん細胞由来のエクソソームが表面に保持している HER2 という種類のタンパク質と特異的な相互作用をします(図 2(b))。これらを担体の直径 4 μm のシリカビーズに修飾しました。まず、ペプチドを修飾するための高分子をシリカビーズに修飾し、さらにその上に温度応答性高分子を修飾して二層構造の高分子層を作製しました。その後、二層構造の下層の高分子層にペプチドを修飾しました(図 2(c))。

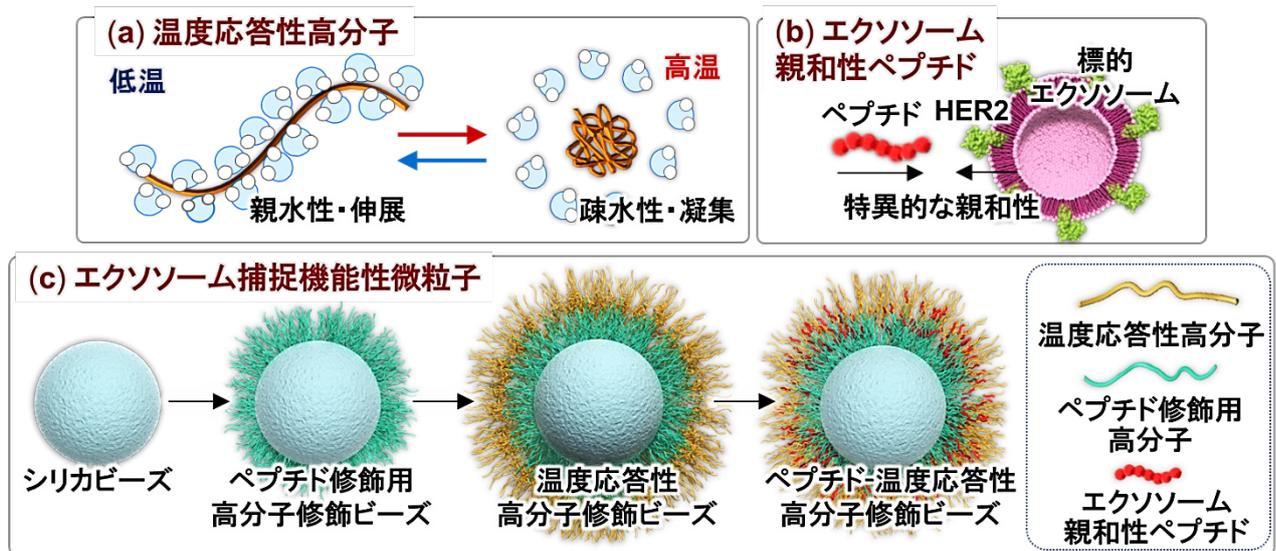


図 2 温度応答性高分子とエクソソーム親和性ペプチドを用いた機能性微粒子

作製した機能性微粒子は、温度 37°C では上層の温度応答性高分子が収縮し、下層のペプチドが露出します。露出したペプチドがエクソソーム表面のタンパク質に作用し、エクソソームを吸着させます。さらに温度を 4°C に下げると、上層の温度応答性高分子が伸長し、ペプチドが温度応答性高分子に隠されるため、エクソソームはビーズから離されます。これにより、温度 37°C で標的のエクソソームをビーズ表面に捕捉させることができます(図 3(a))。温度 37°C、4°C でエクソソーム溶液に作製したビーズを浸漬させると、37°C では比較的高いエクソソームの捕捉率を示しました。溶液中のエクソソームのうち HER2 を発現しているエクソソームは 3 割程度なので、ほぼ全てのエクソソームを捕捉できていることがわかりました(図 3(b))。

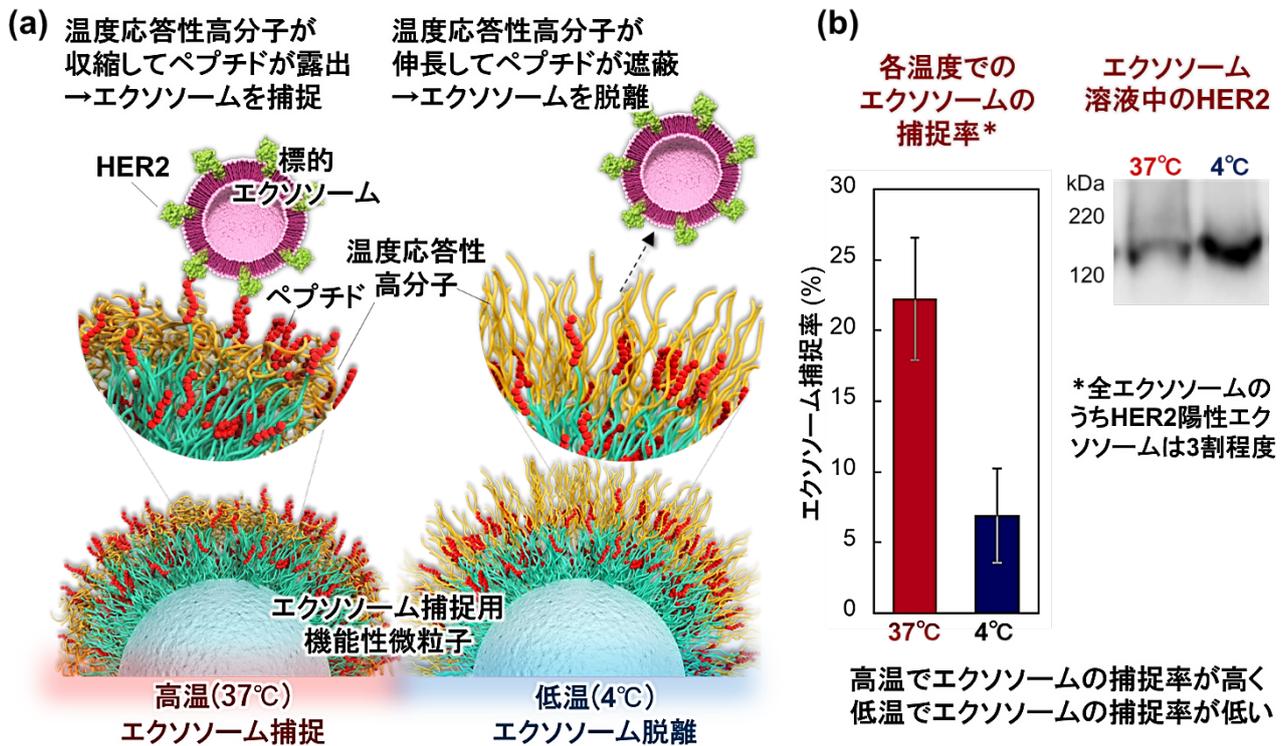


図3 温度応答性高分子とペプチドを用いた機能性微粒子の温度制御によるエクソソームの捕捉・脱離 (a) 機能性微粒子の温度変化によるエクソソーム捕捉・脱離の概念図 (b) 各温度でのエクソソームの捕捉率

また、37°Cで標的エクソソームを捕捉し、温度を4°Cに下げることによって、ビーズ表面に吸着したエクソソームを脱離させ回収することができます(図3(a))。実際に標的エクソソームを37°Cで捕捉した後に、4°Cに温度を低下させたところ、約35%の脱離率でエクソソームを回収することに成功しました(図4(a))。また、回収したエクソソームは、ビーズに作用させる前とほぼ同じ大きさの粒子径を維持していることがわかりました(図4(b))。これにより、作製した機能性微粒子を用いることで、標的エクソソームを温度変化のみで分離精製することが可能となりました。

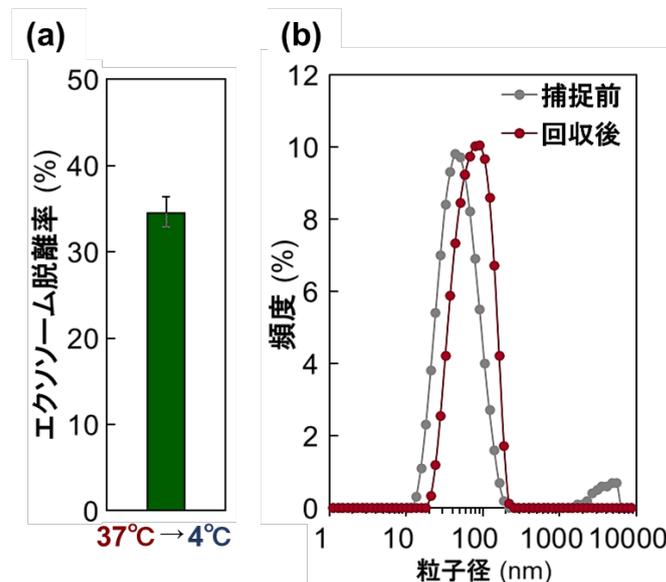


図4 機能性微粒子により捕捉したエクソソームの回収 (a) 37°Cで捕捉したエクソソームを4°Cにした際の脱離率 (b) 捕捉前のエクソソームと回収御後のエクソソームの粒子径分布

4. 今後の展望

本研究で開発した機能性微粒子を用いることで、エクソソームを温度制御だけで簡便に分離精製することが可能となります。本技術により、エクソソームを用いた診断や治療への応用が期待できます。

5. 論文情報

タイトル： Thermoresponsive bio-affinity interfaces for temperature-modulated selective capture and release of targeted exosomes

著者名： Kenichi Nagase*, Kaichi Yamazaki, Yutaro Maekawa, Hideko Kanazawa

雑誌名： Materials Today Bio

DOI： 10.1016/j.mtbio.2022.100521

URL： <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100521>

本研究は以下の助成により行われました。

- ・ 科学研究費 基盤研究(B) 19H02447
- ・ 科学研究費 新学術領域研究「水圏機能材料」 20H05233
- ・ 科学研究費 新学術領域研究「水圏機能材料」 22H04560

<用語説明>

(注1) 超遠心分離：通常の遠心分離よりも高速回転させエクソソームを分離する方法

(注2) サイズ排除分離：エクソソームと他の夾雑物の大きさの違いにより分離方法

(注3) 免疫沈降による分離：エクソソームの表面マーカーに作用する抗体を用いる分離方法

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

<研究内容についてのお問い合わせ先>

慶應義塾大学薬学部 創薬分析化学講座
准教授 長瀬 健一 (ながせ けんいち)

TEL : 03-5400-1378

E-mail : nagase-kn@pha.keio.ac.jp, nagase.kenichi@keio.jp

本発表資料のお問い合わせ先

慶應義塾広報室 (増田)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>