

令和7年3月28日

各報道機関文教担当記者 様

ナノスケールの細胞外小胞を高速原子間力顕微鏡で可視化 ナノ動態観察と免疫表現型分類に成功！

金沢大学大学院新学術創成研究科ナノ生命科学専攻／「知」の共創と往還で実現する新価値創造人材育成プロジェクト選抜学生のみハンマド・イスマン・サンデイラ（博士後期課程3年、研究当時）、ナノ生命科学研究所のキイシヤン・リン特任助教、安藤敏夫特任教授、華山力成教授、リチャード・ウォング教授らの共同研究グループは、**高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）（※1）を用い、細胞外小胞（※2）マーカの動態をナノスケールで観察することに初めて成功しました。**

小型細胞外小胞（small extracellular vesicles、sEVs）は、親細胞由来の脂質、タンパク質、RNA を運搬し、特定の細胞タイプや生物学的状態を示すバイオマーカーとして機能します。エクソソームやマイクロベシクルを含む sEVs は、細胞間の成分輸送を通じた情報伝達に重要な役割を果たします。現在、超遠心分離法や Tim-4 アフィニティ法などの手法により高純度の sEVs を分離することが可能ですが、そのサイズの小ささにもかかわらず、sEVs は細胞内起源の多様性により依然として不均一な性質を持っています。

本研究では、高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）を用い、エクソソームマーカー（IgG CD63 および IgG CD81）と組み合わせることで、単一 sEV レベルでの細胞内起源の解析を実施しました。まず、生理的条件下での HEK293T 細胞由来 sEVs のナノトポロジーを初めて明らかにしました。その結果、直径 100 nm を超える大型 sEVs は、100 nm 以下の小型 sEVs と比較して高さの変動が大きいことが確認されました。さらに、マウス由来の IgG CD63 およびウサギ由来の IgG CD81 と IgG コントロールが、特徴的な「Y字型」の構造を持ち、同様の構造動態特性を示すことを発見しました。最後に、エクソソームマーカー抗体が主に直径 100 nm 以下の sEVs と共局在し、100 nm 超の sEVs ではほとんど見られなかったことから、CD63-CD81 が豊富な sEV（エクソソーム様）と、CD63-CD81 が少ない sEV（エクソソーム様）の2種類のサブタイプが存在することが明らかになりました。

本研究は、高速 AFM を用いたナノスケール解析により、異なる sEV サブタイプの特徴付けが可能であることを実証しました。**この技術は、sEV の多様な集団を識別する新たな手法として、疾患バイオマーカーの研究や診断技術の発展に貢献することが期待されます。**

本研究成果は、2025年3月26日（米国東部時間）に国際細胞外小胞学会誌『*Journal of Extracellular Vesicles*』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

細胞が分泌する小型細胞外小胞 (small extracellular vesicles, sEVs) は、細胞間情報伝達や疾患のバイオマーカーとして注目されています。sEVs にはエクソソームやマイクロベシクルが含まれ、細胞由来の脂質・タンパク質・RNA を運搬することで、生理的・病理的プロセスに関与しています。近年、超遠心分離法や Tim-4 アフィニティ法により、高純度の sEVs の分離が可能になりました。しかし、sEVs の細胞内起源は多様であり、単一 sEV レベルでの詳細な解析は困難でした。本研究では、高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM) を活用し、sEVs のナノスケール解析を行うことで、エクソソームマーカーの動態を可視化し、sEV のサブタイプを特定することを目指しました。

【研究成果の概要】

本研究では、HEK293T 細胞由来の sEVs を対象に、高速 AFM を用いたナノスケール解析を実施しました。その結果、sEVs のナノトポロジーを詳細に観察し、生理的条件下における sEVs の構造的特徴を可視化することに成功しました。特に、直径 100 nm 超の sEVs は、100 nm 以下の sEVs と比較して高さの変動が大きいことが明らかになり、サイズによる構造的な違いが示されました。さらに、エクソソームマーカーである CD63 および CD81 の動態を解析したところ、マウス由来の IgG CD63 およびウサギ由来の IgG CD81 が、ナノスケールレベルで特徴的な「Y字型」構造を持つことを確認しました。この結果から、これらのマーカーが sEV の分類において重要な指標となることが示唆されました (図 1)。

【今後の展開】

本研究により、高速 AFM を活用した sEVs のナノスケール解析の有用性が実証されました。今後は、sEV の細胞内起源のさらなる解明を目指し、高速 AFM によるナノスケール免疫表現型解析を進展させることで、細胞内での sEV の形成メカニズムをより詳細に明らかにしていきます。また、疾患バイオマーカーとしての応用にも取り組み、sEV の表面マーカーを活用した新たな疾患診断技術の開発を進め、がんや神経疾患の早期診断ツールとしての実用化を目指します。さらに、高速 AFM とフローサイトメトリーやナノフローメトリーなどの既存手法を統合し、高精度な sEV 解析技術の確立を図ることで、より包括的な解析が可能なプラットフォームの構築を進めていきます。本研究は、sEV を標的とした診断技術やバイオマーカー研究の新たな可能性を切り開くものであり、今後の発展が期待されます。

本研究は、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)、JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム (JPMJSP2135)、日本学術振興会科学研究費助成事業 (20H05939、22H05537、22H02209、23H04278、24H01276、24K18449)、JST 戦略的創造研究推進事業 (CREST) (JPMJCR22E3)、北陸銀行若手研究者助成金、島津科学技術振興財団、武田科学振興財団の支援を受けて実施されました。

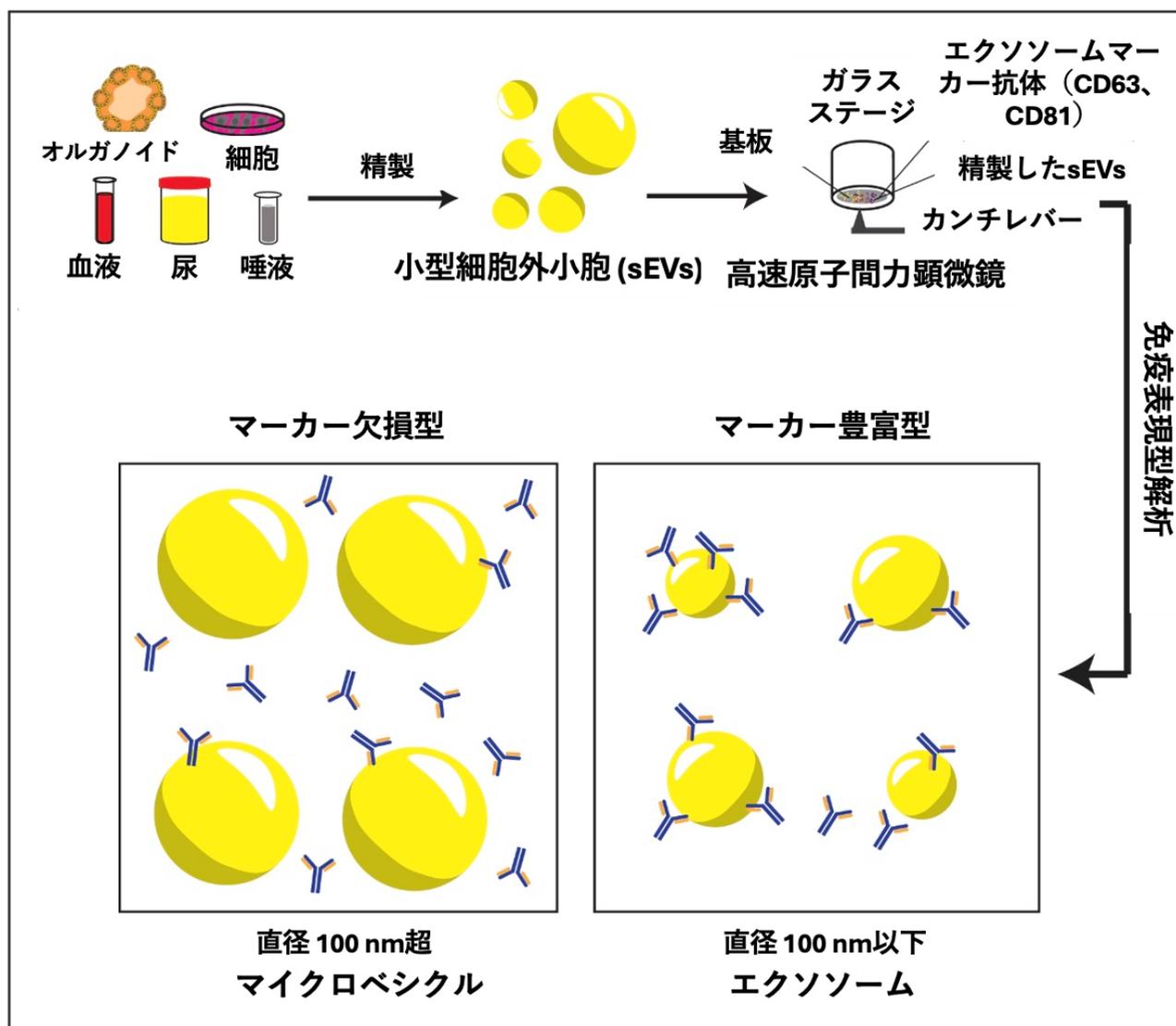


図 1：小型細胞外小胞（sEVs）の免疫表現型解析（Immunophenotyping）

この図は、小型細胞外小胞（sEVs）を高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）で解析し、エクソソームマーカー（CD63、CD81）を用いて免疫表現型分類を行う流れを示しています。

【掲載論文】

雑誌名 : *Journal of Extracellular Vesicles*

論文名 : Nanoscopic Profiling of Small Extracellular Vesicles via High-Speed Atomic Force Microscopy (HS-AFM) Videography

(高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM) ビデオグラフィーによる小型細胞外小胞のナノスケールプロファイリング)

著者名 : Muhammad Isman Sandira^{1,2}, Keesiang Lim², Takeshi Yoshida^{2,6}, Elma Sakinatus Sajidah², Shinnosuke Narimatsu^{1,2}, Reon Imakawa⁴, Kota Yoshimura⁴, Goro Nishide^{1,2}, Yujia Qiu^{1,2}, Azuma Taoka², Masaharu Hazawa^{2,5}, Toshio Ando², Rikinari Hanayama^{2,6}, Richard W Wong^{1,2,5}

(ムハンマド・イスマン・サンデイラ^{1,2}、キイシヤン・リン²、吉田孟史^{2,6}、エルマ・サキナトウス・サジダ²、成松慎之佑^{1,2}、今川怜音⁴、吉村光太⁴、西出梧朗^{1,2}、邱宇嘉^{1,2}、田岡 東²、羽澤勝治^{2,5}、安藤敏夫²、華山力成^{2,6}、リチャード・ウォング^{1,2,5})

1. 金沢大学 大学院新学術創成研究科 ナノ生命科学専攻
2. 金沢大学 ナノ生命科学研究所
3. 金沢大学 理工研究域生命理工学系
4. 金沢大学 理工学域生命理工学類
5. 金沢大学 新学術創成研究機構 セルバイオノミクスユニット
6. 金沢大学 医薬保健研究域 医学系

掲載日時 : 2025 年 3 月 26 日 (米国東部時間) にオンライン版に掲載

DOI : 10.1002/jev2.70050

URL : <https://isevjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jev2.70050>

【用語解説】

※1 高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM)

探針と試料の間に働く原子間力を基に分子の形状をナノメートル (10^{-9} m) 程度の高い空間分解能で可視化する顕微鏡。高速 AFM は溶液中で動いているタンパク質などの生体分子をナノメートルの空間分解能とサブ秒という時間分解能で観察することが可能である。

※2 細胞外小胞 (extracellular vesicles、EVs)

細胞が分泌する脂質二重膜に覆われた小胞のこと。分泌細胞由来のタンパク質や RNA などの核酸、脂質などを含んでおり、さまざまな細胞間情報伝達を担っている。

【本件に関するお問い合わせ先】

■ 研究内容に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構 教授

リチャード・ウォング (Richard Wong)

TEL : 076-264-6250

E-mail : rwong@staff.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学ナノ生命科学研究所 教授

華山 力成 (はなやま りきなり) ※日本語で対応します

TEL : 076-265-2725

E-mail : hanayama@med.kanazawa-u.ac.jp

■ 広報に関すること

金沢大学先端科学・社会共創推進機構 特任准教授

山崎 輝美 (やまざき てるみ)

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

広報・事業企画グループ

TEL : 076-234-4555

E-mail : nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp