

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	正常細胞と腫瘍由来エクソゾームの構造と力学特性の違いの 3D-AFM 観察による識別		
研究テーマ (英文)	The identification of differences in exosome structural and mechanical characteristics between normal and tumor-derived exosomes by 3D-AFM measurements		
研究期間	2019 年 ~ 2020 年	研究機関名	WPI Nano Life Science Institute Kanazawa University
研究代表者	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	ユルトセベル アイハン
		(英文)	YURTSEVER AYHAN
	所属機関・職名	WPI Nano Life Science Institute, Kanazawa University/ Assistant Professor	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	吉田 孟史
		(カタカナ)	ヨシダ タケシ
		(英文)	Takeshi Yoshida
	所属機関・職名	WPI Nano Life Science Institute, Kanazawa University/ Assistant Professor	

概要 (600 字~800 字程度にまとめてください。)

エクソゾームは、細胞間コミュニケーションのメディエーターとして、また癌やその他の疾患の潜在的なバイオマーカーとして近年関心を集めている。また、薬物送達システムのナノキャリアとしての可能性をも秘めている。従って、エクソゾームの構造、分子、および生体力学に関する特性を詳細に評価することは、癌や他の疾患によって起こる変化を検出し、特定する方法を開発するために非常に重要である。

本研究では、3次元原子間力顕微鏡(3D-AFM)を使用し、生理学的に適切な条件において高い空間分解能で、エクソゾームの構造とナノ力学特性を明らかにした。具体的には、3種類の細胞由来のエクソゾームについて、3D-AFM フォースマッピングにより構造の一部の詳細が得られた。分析の結果、外側の表面上にあるエクソゾーム膜タンパク質に関連する、膜表面から膨らんだ明らかな局所ドメインが存在することがわかった。3D フォースマップから得られた個々のエクソゾームのナノ力学特性のうち、弾性率については50~350MPaと、合成リポソームと比較してかなり高い値を示した。さらに、転移性および非転移性の腫瘍細胞由来のエクソゾームを比較することによって、エクソゾームの力学特性の悪性腫瘍に対する依存性が変化することも判明した。両エクソゾームのヤング率の値に明らかな違いが見られ、タンパク質プロファイルやその他の含有物質に違いがあることが示唆される結果となった。高悪性度を有する転移性の k-ras 活性化ヒト骨肉腫(OS)細胞株(143B)に由来するエクソゾームは、高悪性度を有しない非転移性の k-ras-野生型ヒト OS 細胞株(HOS)に由来するものよりも、高いヤング率を示した。143B 細胞由来のエクソゾームの弾性率の上昇は、弾性繊維形成に関与する特定のタンパク質が多量の存在していることに起因しており、このことは質量分析、ウエスタンブロッティングおよび ELISA によって確認された。したがって、転移性腫瘍細胞に由来するエクソゾームは、非転移性のそれとは異なる独特なタンパク質を含有し、そのため異なる力学特性を示すと結論付けられる。転移性および非転移性の悪性細胞由来のエクソゾームを識別することは、エクソゾームの生物学的機能の研究において、また様々な腫瘍の診断バイオマーカーとしての利用において、非常に重要である。今回の発見は、転移性腫瘍細胞由来のエクソゾームにおいて弾性線維関連タンパク質のレベルが増加しており、そのためエクソゾームの柔軟性が維持されていることを示唆している。

発表文献 (この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。)						
雑誌	論文課題	Structural and mechanical characteristics of exosomes from osteosarcoma cells explored by 3D-atomic force microscopy				
	著者名	Ayhan Yurtsever, Takeshi Yoshida, Arash Badami Behjat, Yoshihiro Araki, Rikinari Hanayama, and Takeshi Fukuma	雑誌名	NANOSCALE		
	ページ	6661~6677	発行年	2 0 2 1	巻号	13
雑誌	論文課題	Photothermal excitation efficiency enhancement of cantilevers by electron beam deposition of amorphous carbon thin films				
	著者名	Marcos Penedo, Ayhan Yurtsever, Keisuke Miyazawa, Hirotoishi Furusho, Kiyoki Ishii & Takeshi Fukuma	雑誌名	Nature SCIENTIFIC REPORT		
	ページ	17436~	発行年	2 0 2 0	巻号	10
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録 (100語~200語程度にまとめてください。)

We report the use of 3D-AFM under in-liquid conditions to reveal the structural and nanomechanical characteristics of exosomes derived from three different cell types: a highly aggressive and metastatic murine osteosarcoma (OS) cell line (LM8), a highly aggressive and metastatic k-ras-activated human OS cell line (143B), and a nonaggressive and nonmetastatic k-ras-wildtype human OS cell line (HOS). The 3D-AFM force maps acquired over individual exosomes revealed a non-homogeneous granular-like morphology with distinct local regions, which could be attributed to the presence of proteins such as receptors that are exposed to the outer surface of the exosome membrane. We found a clear difference in the mechanical properties between nonmetastatic and metastatic tumor cell-derived exosomes. Exosome proteomic analysis using mass spectrometry, ELISA, and western blotting indicated the enrichment of certain proteins specific to elastic fiber assembly. These groups of proteins were found to be highly enriched in 143B cell-derived exosomes compared to the HOS cell-derived exosomes. This may explain the observed mechanical differences between metastatic and nonmetastatic tumor cell-derived exosomes. We further examined the mechanical properties of the parent cells that secrete HOS and 143B exosomes. The results showed a decrease in the Young's modulus of 143B cells compared to that of HOS cells, confirming widely accepted results. Cell-based ELISA indicated that the elastic-fiber associated proteins-which were highly expressed in 143B exosomes-were significantly less expressed in metastatic parent 143B cells than in nonmetastatic HOS cells. Our findings thus suggest that metastatic tumor cells may preserve their softness by releasing certain proteins through exosomes.