

# 見た目はそっくりでも細胞への侵入経路は違う

## —人工ナノ粒子と、細胞が自然に放出する小胞の違いをタンパク質から読み解く—

### 概要

私たちの体内では、エクソソームをはじめとする細胞外小胞 [注 1] が、産生した細胞のタンパク質や核酸などを運ぶことで、受容した細胞に情報を届けていることが知られています。細胞外小胞は細胞由来の膜に包まれているため、生体になじみやすく、薬や機能性分子を目的の細胞へ届けるナノキャリアとして注目されています。一方、細胞が自然に分泌する細胞外小胞は大量に集めにくいいため、細胞を機械的に加工して作る細胞由来ナノベシクル (CDN) [注 2] が代替候補として開発されています。しかし、CDN が自然に分泌される細胞外小胞と同じ仕組みで細胞に取り込まれるかは、十分に分かっていませんでした。

京都大学大学院薬学研究科の金尾英佑助教、石濱泰教授、同大学大学院工学研究科の水田涼介助教、佐々木善浩教授、同大学高等研究院 物質－細胞統合システム拠点 (iCeMS) の秋吉一成特定拠点教授 (研究当時：大学院医学研究科)、理化学研究所生命医科学研究センタープロテオーム恒常性研究ユニットの今見考志ユニットリーダーらの共同研究グループは、人工的に作製した CDN と、天然に存在する細胞外小胞が細胞に取り込まれる経路を、それぞれのナノ粒子と受容細胞の双方のプロテオーム [注 3] 情報を読み解くことで同定する新しい計測技術を開発しました。その結果、サイズや表面電荷がよく似た両者でも、構成するタンパク質成分や受容細胞との接触の仕方が異なることを明らかにしました。また、両者に共通する基本的な取り込み候補としてマクロピノサイトーシスを捉えるとともに、CDN ではクラスリン依存性 [注 4] または CLIC/GEEC 関連の経路を含む複数の経路が関わる可能性を示し、CDN が天然の細胞外小胞よりも多様な経路で細胞へと取り込まれることを明らかにしました。この成果は、狙った細胞へ届きやすいナノキャリアを設計し、高精度な細胞操作技術や治療技術を実現するための情報計測基盤になると期待されます。本研究成果は、2026 年 9 月 2 日に Small Methods のオンライン版にて掲載されました。

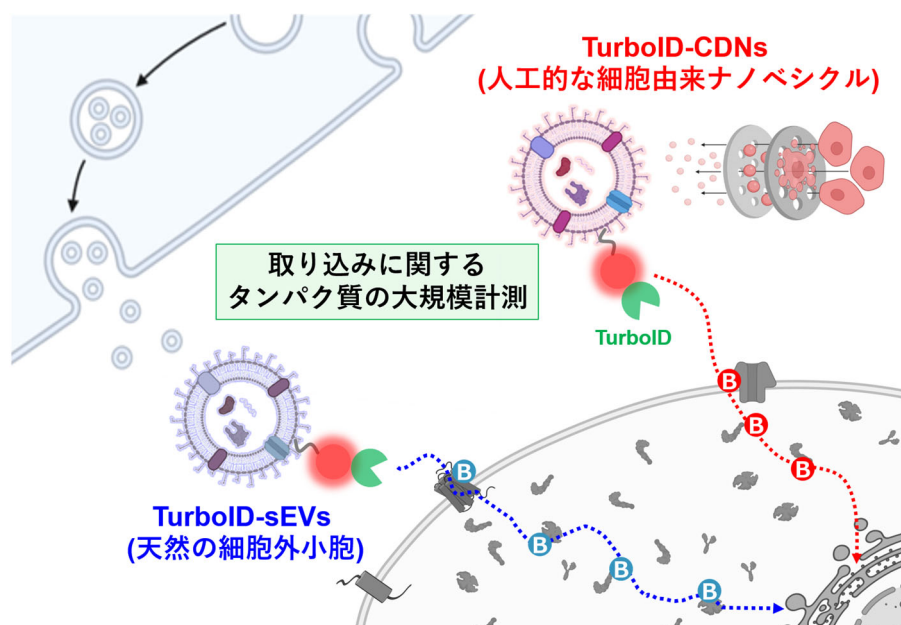


図. ナノ粒子の取り込み経路を調べる本研究の計測法。イラストは BioRender.com.で作成。

## 1. 背景

細胞外小胞は、タンパク質や核酸を別の細胞へ運ぶナノサイズの膜小胞であり、薬や機能性分子を目的の細胞へ届けるナノキャリアとして期待されています。しかし、自然に分泌される細胞外小胞は得られる量が少なく、品質をそろえて大量に製造することが困難です。そこで、培養細胞を機械的に加工して作る細胞由来ナノベシクル（CDN）が、製造しやすい代替ナノキャリアとして注目されています。ただし、作製方法によって膜タンパク質の種類や配置が変われば、細胞への接着や取り込みに使われる経路も変化します。従来法ではこれらのナノ粒子の取り込み量は測れても、粒子側のどの特徴が細胞側のどの受け取り口と結び付いたのかを、網羅的に調べることはできませんでした。

## 2. 研究手法・成果

共同研究グループは、同じ種類の細胞から作製した CDN と細胞外小胞について、それぞれを構成するタンパク質をプロテオーム解析によって網羅的に調べました。得られた情報から、ナノ粒子側の膜タンパク質成分を読み出し、細胞への接着や取り込みに関係する候補経路を取り込み関連分子との対応をもとにスコア化する解析手法を構築しました。次に、半径約 10 nm 以内に存在するタンパク質を網羅的にビオチン化 [注 5] し、接触したタンパク質に目印を付ける酵素 TurboID [注 6] をナノベシクルの膜表面に搭載し、受容細胞に取り込ませました。この時、受容細胞側でビオチン化された膜タンパク質をプロテオーム解析で網羅的に調べることで、受容細胞側からも取り込みに関係する経路を予測しました。これにより、ナノ粒子側と受容細胞の双方から取り込み経路を絞りこむスキームを確立しました。その結果、CDN と細胞外小胞は、大きさや表面電荷がよく似ている一方、構成するタンパク質と、受容細胞との接触面に集まるタンパク質は大きく異なっていることがわかりました。CDN と細胞外小胞の双方で、細胞が周囲の液体ごと粒子を取り込むマクロピノサイトーシスが、基本的な取り込み経路の候補として浮かび上がりましたが、CDN では、クラスリン依存性経路や、クラスリンを使わない CLIC/GEEC 関連経路を含む複数の経路が関与する可能性が示されました。さらにマクロピノサイトーシスを抑えても CDN の取り込みが大きく低下しなかったことも、別の経路が補う可能性を支持しています。これらの結果から、CDN は細胞外小胞よりも多様な経路を利用して細胞に取り込まれることを明らかにしました。

## 3. 波及効果、今後の予定

本研究により、ナノベシクルが細胞に「どれだけ入ったか」だけでなく、粒子表面のどの特徴が細胞側のどの受け取り口と結び付き、どの経路から取り込まれる可能性があるのかを調べられるようになりました。細胞の種類や作製条件による違いを比較することで、目的の細胞に届きやすい粒子の選定や表面設計に役立てられます。今後は候補経路を検証するとともに、ナノ粒子表面を意図的に制御し、高精度な細胞操作や薬物送達、治療技術につながるナノキャリアの開発を目指します。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、AMED-PRIME（JP24gm7010003）、AMED-Interstellar Initiative（25jm0610109h0001）、JST A-STEP（JPMJTR25U9）、日本学術振興会科学研究費助成事業（JP26K22909、JP26K02156、JP23K13774、JP21K14652、JP26K03292、JP24K21340、JP23H04934、JP23K23466）、京都大学 Incubation Program Advance、トヨタ理研スカラー、武田科学振興財団の支援を受けて行われました。

### <用語解説>

注1 細胞外小胞：細胞から自然に分泌される膜小胞です。タンパク質や核酸などを別の細胞へ運び、細胞間のコミュニケーションを媒介します。

注2 細胞由来ナノベシクル (CDN)：培養細胞を機械的に押し出し、細胞膜を再集合させて人工的に作られたナノサイズの膜小胞です。

注3 プロテオーム解析：試料に含まれる多数のタンパク質を質量分析などで網羅的に同定・定量する解析です。

注4 クラスリン依存性：細胞が物質を内部に取り込む際に、クラスリンというタンパク質の働きを必要とすること。クラスリンは細胞膜の内側に集まり、膜を小さな袋状にして物質を包み込み、細胞内へ取り込む過程を助けます。

注5 ビオチン化：タンパク質などに、ビタミンの一種であるビオチンを「目印」として付けること。ビオチンに強く結合する物質を利用して、目印を付けたタンパク質を検出したり、回収して調べたりできるようになります。

注6 TurboID：半径約 10 nm 以内に存在するタンパク質にビオチンの印を付ける酵素で、分子や粒子の近傍に何が存在したかを調べることができます。

### <研究者のコメント>

ナノベシクルを“荷物”、受容細胞を“届け先”に例えると、粒子表面のタンパク質は荷札、細胞側のタンパク質は表札に相当します。本研究では荷札と表札の両方を読むことで、見た目がそっくりの荷物でも、細胞側の受け取り口が異なる可能性を双方のプロテオーム情報を読み解くことで明らかにしました。今後は、本手法で得られる情報を基盤に、人工ナノ粒子を使った高精度な細胞操作技術や治療技術の開発を進めていく予定です。

### <論文タイトルと著者>

タイトル： Proximity Proteomics Maps Candidate Cellular Uptake Pathways for Cell-Derived Nanovesicles (近接プロテオミクスによる細胞由来ナノベシクルの細胞取り込み候補経路のマッピング)

著者：金尾 英佑†\*、水田 涼介†、多羅尾 早紀、原 幸花、李 優嘉、秋吉 一成、石濱 泰、今見 考志、佐々木 善浩\*  
(† 共同筆頭著者 \*責任著者)

掲載誌： *Small Methods* DOI：10.1002/smt.71014