

# 研究領域「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」事後評価（課題評価）結果

## 1. 研究領域の概要

本研究領域は、細胞外微粒子に起因する生命現象の解明及びその理解に基づく制御技術の導出を目的とします。

生体内の細胞外微粒子にはナノからマイクロサイズに至る様々なものが存在します。それらは、環境中から生体内に取り込まれるPM2.5やナノマテリアル等の外因性微粒子と、細胞外小胞であるマイクロベジクルやエクソソーム等の生体内由来の内因性微粒子に大別されます。

外因性微粒子は、ナノマテリアル等について安全性評価の側面から研究が進められてきたこともあり、生体における動態や応答機序等は十分には解明されていません。一方、内因性微粒子は、細胞外小胞が細胞間コミュニケーションにおいて重要な役割を果たし、がんや認知症等の多くの疾患と関連することが近年注目を集めていますが、形成過程や生理的な意義等についてはその多くが未解明です。

以上を踏まえ、本研究領域では、内因性微粒子や外因性微粒子の動作原理、生体応答・認識に関する分子機構の解明に加え、微粒子の検出・分離・計測・解析等の基盤技術の開発を一体的に取り組み、細胞外微粒子に起因する生命現象を明らかにするとともにその制御に向けた基盤的研究を推進します。

## 2. 事後評価の概要

### 2-1. 評価の目的、方法、評価項目及び基準

戦略的創造研究推進事業・CRESTにおける事後評価の目的、方法、評価項目及び基準に沿って実施した。

### 2-2. 評価対象研究代表者及び研究課題

#### 2017年度採択研究課題

- (1) 秋田 英万（東北大学大学院薬学研究科 教授）  
リンパシステム内ナノ粒子動態・コミュニケーションの包括的制御と創薬基盤開発
- (2) 秋吉 一成（京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 教授）  
糖鎖を基軸とするエクソソームの多様性解析と生体応答・制御のための基盤研究
- (3) 澤田 誠（名古屋大学環境医学研究所 教授）  
シグナルペプチド：細胞外微粒子機能の新規マーカー
- (4) 福田 光則（東北大学大学院生命科学研究科 教授）  
細胞外小胞の形成・分泌とその異質性を生み出す分子機構の解明  
～人工細胞外小胞への展開
- (5) 山下 潤（東京大学医学系研究科 特任教授）  
分化再生と生体恒常性を制御するエクソソームの新しい細胞同調機能の解明と  
ナノ粒子による生体機能制御への応用
- (6) 吉森 保（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）  
オートファジーによる細胞外微粒子応答と形成

### 2-3. 事後評価会の実施時期

2022年12月20日（火曜日）

## 2-4. 評価者

### 研究総括

馬場 嘉信	名古屋大学大学院工学研究科 教授
領域アドバイザー	
一柳 優子	横浜国立大学大学院工学研究院 教授／大阪大学大学院理学研究科 熱・エントロピー科学研究センター 特任教授
今井 浩三	北海道大学遺伝子病制御研究所 客員教授
浦野 泰照	東京大学大学院薬学系研究科・医学系研究科 教授
津本 浩平	東京大学大学院工学系研究科 教授
永沼 章	東北大学 名誉教授
中山 和久	京都大学大学院薬学研究科 教授
信正 均	東レ(株) 先端融合研究所 常任理事・所長
花方 信孝	物質・材料研究機構 理事
早川 和一	金沢大学環日本海域環境研究センター 名誉教授
原田 彰宏	大阪大学大学院医学系研究科 教授
深瀬 浩一	大阪大学大学院理学研究科 教授・研究科長
吉田 佳一	(株)島津製作所 シニアアドバイザー

### 外部評価者

該当なし

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： リンパシステム内ナノ粒子動態・コミュニケーションの包括的制御と創薬基盤開発

2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

秋田 英万（東北大学大学院薬学研究科 教授）

主たる共同研究者

市川 聡（北海道大学大学院薬学研究院 教授）

渡慶次 学（北海道大学大学院工学研究院 教授）

大槻 純男（熊本大学大学院生命科学研究部 教授）

岡田 峰陽（理化学研究所統合生命医科学研究センター チームリーダー）

龍崎 奏（北海道大学大学院理学研究院 准教授）

田中 浩揮（千葉大学大学院薬学研究院 助教）

3. 事後評価結果

○評点：

A+ 非常に優れている
-------------

○総合評価コメント：

本研究は、細胞外微粒子のリンパシステム内の動態とコミュニケーションの包括的制御を目指すとともに、創薬基盤の開発を目的として研究開発を進め、本領域の目標達成と科学技術イノベーションに大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

リンパ節内での脂質ナノ粒子の動態をリアルタイムに観察可能な手法を開発し、異なる表面物性・サイズを持つ脂質ナノ粒子の動態を解析し、リンパ節内動態を制御できる脂質ナノ粒子を見出すとともに、リンパ内皮細胞から産生されるエクソソームが免疫活性化を抑える役割を持つことを見出した。さらに、ビタミンEを足場とする脂質ナノ粒子のRNA/DNA ワクチンとしての有用性を世界に先駆けて示すとともに、脂質ナノ粒子の粒径を精密に制御し大量生産できるマイクロ流体デバイスの開発および mRNA 創薬のための Ready-to-Use 製剤技術の開発など、いずれも国際的に高く評価される成果をあげている。特に、mRNA キャリアの材料として新規自己分解性脂質ナノ粒子(ssPalm0-phe)の開発は、インパクトの高い論文となるとともに全世界の企業、大学へ供給されている。また、開発した脂質ナノ粒子生産用マイクロ流体デバイスは、北大発ベンチャーから実用化され GMP 対応製造装置の開発へ発展している。領域内外の研究者や企業との積極的な連携により、科学技術イノベーションにつながる国際的に高く評価された成果をあげるとともに、本領域の目標達成に大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

今後は、リンパシステム内の細胞外微粒子動態制御に基づく、世界標準の創薬基盤が構築されることが期待される。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 糖鎖を基軸とするエクソソームの多様性解析と生体応答・制御のための基盤研究
2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

秋吉 一成（京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 教授）

主たる共同研究者

館野 浩章（産業技術総合研究所創薬基盤研究部門 研究グループ長）

瀬尾 尚宏（三重大学大学院医学系研究科 特任講師）

古川 鋼一（中部大学生命健康科学部 教授）

大塚 浩二（京都大学大学院工学研究科 教授）

### 3. 後評価結果

○評点：

A+ 非常に優れている
-------------

○総合評価コメント：

本研究は、糖鎖を基軸としてエクソソームの多様性を解明するとともに、エクソソームの生体応答解明と制御を目的として研究開発を進め、本領域の目標達成と科学技術イノベーションに大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

エクソソーム表層糖鎖解析のための超高感度レクチンマイクロアイ法を開発し、エクソソーム集団の糖鎖プロファイリングパターンが、細胞外小胞の多様性、不均一性の新規指標として有用であることを世界に先駆けて明らかにした。糖鎖遺伝子操作により糖脂質リモデリングエクソソームの構築に成功し、転移性の高いGD2高発現細胞から産生されるエクソソームはがん形質を増強するのみならず細胞シグナルを増強することなど、エクソソーム糖脂質の機能を世界で初めて明らかにした。さらに、ヒトiPS細胞由来エクソソームの表層糖鎖が再生医療に用いる細胞治療製品の品質管理に有効であることを明らかにした。また、アルツハイマー病やすい臓がんの疾患の早期診断においても、患者の血清由来エクソソームの糖鎖プロファイリングが有用であることを示した。さらに、レクチン固定化スポンジモノリスカラムを開発し、糖鎖認識を利用した新規分離精製手法を開発するとともに、限外濾過法と陰イオン交換法を用いた機能的な高純度エクソソームの大量調製法を開発した。これらの成果は、多くのインパクトの高い論文として発表するなど、国際的に極めて高く評価されている。領域内外の研究者や企業との積極的な連携により、科学技術イノベーションにつながる成果をあげるとともに、本領域の目標達成に大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

今後は、これらの優れた研究成果をさらに発展させることにより、糖鎖を基軸としたエクソソーム工学の進展と医学・生命科学の分野への大きな貢献が期待される。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： シグナルペプチド：細胞外微粒子機能の新規マーカー
2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

澤田 誠（名古屋大学環境医学研究所 教授）

主たる共同研究者

阪本 考司（名古屋大学医学部附属病院 病院助教）

### 3. 後評価結果

○評点：

B やや劣っている
-----------

○総合評価コメント：

本研究は、細胞外小胞におけるシグナルペプチドを新規マーカーとして、細胞外微粒子の機能の解明を目的として研究開発が進められ、本領域の目標達成に貢献する成果が得られた。

シグナルペプチド強制発現モデル細胞(T-REx293 AspALP)から細胞外小胞(EV)を調製し、MALDI-MS/MSによる解析を行うことで、融合タンパク質(APP<sup>sp</sup>-SEAP)から生じる APP<sup>sp</sup> 配列のシグナルペプチドペプチダーゼ(SPPase)で切断されたアミノ酸断片の検出に成功した。シグナルペプチドは導入した遺伝子の発現誘導によって増大することから EV に含まれる シグナルペプチドは導入した遺伝子のタンパク質翻訳時に生じたものであることが解明された。本研究は、シグナルペプチドを細胞外微粒子機能の新規マーカーとして確立するには至っていないが、シグナルペプチドが EV に内包されることを示した初めての成果と考えられる。さらに、外因性細胞外微粒子のモデルマウス肺組織における細胞内局在と生体反応解析、呼吸由来の細胞外小胞の新規回収技術の開発と臨床病態を反映する新たなバイオマーカーが同定された。これらの研究成果は、インパクトの高い論文として発表するなど、国際的に評価されており、本領域の目標達成に貢献する成果が得られた。

今後、シグナルペプチドが生成する機構の解明と、シグナルペプチドと肺疾患等の病態との関連を解明することで、シグナルペプチドが新規マーカーとして医療診断等に活用されることが期待される。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 細胞外小胞の形成・分泌とその異質性を生み出す分子機構の解明  
～人工細胞外小胞への展開
2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

福田 光則（東北大学大学院生命科学研究科 教授）

主たる共同研究者

森田 英嗣（弘前大学農学生命科学部 准教授）

田中 伸幸（宮城県立がんセンター研究所がん先進治療開発研究部 部長）

小根山 千歳（愛知県がんセンター研究所腫瘍制御学分野 分野長）

### 3. 後評価結果

○評点：

A+ 非常に優れている
-------------

○総合評価コメント：

本研究は、細胞外小胞の異質性を生み出す分子機構の解明を目指すとともに、人工細胞外小胞への展開を目的として研究開発を進め、本領域の目標達成と科学技術イノベーションに大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

上皮細胞を用いて、頂端膜と側底膜から放出される組成の異なるエクソソームの形成・輸送・分泌の分子機構の違いを世界に先駆けて解明するなど優れた成果を上げた。頂端膜エクソソームでは、ALIX 依存的な内腔小胞の形成、側底膜エクソソームではスフィンゴミエリナーゼ/セラミド代謝依存的な内腔小胞が形成されることを世界で初めて明らかにした。さらに、上皮細胞の頂端膜と側底膜エクソソームの元となる多胞体の細胞膜への輸送に異なるセットの Rab 分子（Rab27/37 と Rab39）が関与することを明らかにし、特に側底膜エクソソームの分泌には Rab39-UACA-BORC 複合体が機能することを見出すとともに、Rab ノックアウト細胞株を開発し、Rab6 が基底膜成分を含む可溶性蛋白質の分泌全般に必須であることを見出すなど、多くの国際的に高く評価される優れた成果が得られた。また、抗原を取り込ませた被膜小胞を樹状細胞に取り込ませることで、細胞傷害性 T 細胞を介した細胞性免疫を誘導できることを明らかにしており応用展開が期待される。これらの研究成果は、インパクトの高い論文として発表され、国際的に極めて高く評価されている。領域内外の研究者との積極的な連携により、科学技術イノベーションにつながる成果をあげるとともに、本領域の目標達成に大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

今後、細胞外小胞の異質性を生み出す分子機構のさらなる解明につながる研究を展開することにより、細胞外微粒子の科学のフロンティアをさらに開拓することが期待される。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 分化再生と生体恒常性を制御するエクソソームの新しい細胞同調機能の解明と  
ナノ粒子による生体機能制御への応用

2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

山下 潤（東京大学医学系研究科 特任教授）

主たる共同研究者

的場 哲哉（九州大学病院循環器内科 講師）

3. 後評価結果

○評点：

B やや劣っている
-----------

○総合評価コメント：

本研究では、細胞分化等におけるエクソソームの新規細胞同調機能の解明と人工ナノ粒子による生体機能制御応用を目的として研究開発が進められ、本領域の目標達成に貢献する優れた成果が得られた。

分化速度が異なる2種類の多能性幹細胞が混在する状況を人為的に作り出す実験モデルを構築し、幹細胞分化時に細胞が、エクソソームを介して情報をやり取りし、相互の分化段階や細胞形質を同調させることを世界に先駆けて見出した。本研究は、エクソソームの細胞同調機能について、より詳細な解明には至っていないが、エクソソームの細胞形質同調には、特定のマイクロRNA (miR-132) が関わっていることを見出し、miR-132 を含んだ人工のナノ粒子を作製してマウスの胚に添加したところ、心筋細胞への分化が促進されることを確認した。本研究成果は、インパクトの高い論文として発表されるとともに、特許出願するなど、国際的に高く評価されている。また、細胞同調機能の機構をイメージングするための新規技術開発を進め、細胞間の微粒子動態のイメージングに成功するなど、科学技術イノベーションにつながる成果をあげるとともに、本領域の目標達成に貢献する成果が得られた。

今後、イメージング技術のさらなる発展により、細胞形質同調機能の機構解明を進めることが期待される。さらに、エクソソームを介した細胞形質同調作用は、低侵襲の新しい心臓再生治療法として、社会的に極めてインパクトの高い新規治療法の開発が期待される。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：オートファジーによる細胞外微粒子応答と形成
2. 研究代表者名及び主たる共同研究者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者

吉森 保（大阪大学大学院生命機能研究科・教授）

主たる共同研究者

池中 健介（大阪大学大学院医学系研究科・助教）

### 3. 後評価結果

○評点：

A 優れている
---------

○総合評価コメント：

本研究は、細胞外微粒子のオートファジーによる応答など細胞外微粒子の生体応答の解明を目指して研究開発を進め、本領域の目標達成と科学技術イノベーションに大きく貢献する優れた成果が得られた。

細胞外微粒子によるリソソーム損傷時に働く転写因子として TFEB を新たに同定し、損傷リソソーム除去とその後起こるリソソーム新生に関わる新たな信号伝達経路とその生理的意義を世界に先駆けて明らかにした。さらに、リソソームの損傷を認識しオートフォゴソームを形成するリソファジーの分子機構の研究を進め、リソファジーに働く E3 リガーゼ複合体を同定し、リソファジーの初期段階の分子機構を明らかにした。また、エクソソームの形成・放出におけるオートファジーの役割を解明し、外因性と内因性微粒子の関連解明に大きく貢献した。また、LC3 が、ムコリピドーシス IV 型と呼ばれるリソソーム病の原因因子であるカルシウムチャンネル TRPML1 と相互作用することで、TFEB 活性を調節することを見出した。TRPML1 の活性化は TFEB 活性化を介したリソソーム機能亢進やオートファジーの活性化を通して、リソソーム病や神経変性疾患を含む多くの病態改善に寄与するために、TRPML1 のアゴニスト開発などにより、リソソーム病治療へと応用可能な成果である。これらの研究成果を、極めてインパクトの高い論文として発表するなど、科学技術イノベーションにつながる国際的に高く評価された成果をあげるとともに、本領域の目標達成に大きく貢献する極めて優れた成果が得られた。

今後、細胞外微粒子の生体応答のさらなる解明につながる研究を展開するとともに、疾患治療への応用などに研究が展開することを期待したい。