

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

2017年度採択研究代表者

|                 |
|-----------------|
| 2020年度<br>年次報告書 |
|-----------------|

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

## § 1. 研究成果の概要

環境中の微粒子は様々な生体作用を誘発し同時に生体もエクソソームと呼ばれる生体由来微粒子を産生して防御反応などの生体応答が生じます。私たちは独自に開発したホットメルト-質量分析法でこのエクソソーム中に多量のペプチド分子が含まれていることを見出しました。検出されたペプチドの中には種々の生物活性を持つものがあり、エクソソームが担う生体調節機構の一端を担っている可能性があります。そこで、(1) 微粒子を効率よくとり出せる技術と組み合わせて質量分析を行って特異的なペプチドを同定する、(2) 細胞間の調節機能を担っているペプチドの本態を明らかにし領域が目指している細胞外微粒子に起因する生命現象の解明に貢献、さらに、(3) ペプチドなどの高分子を効率よくエクソソームに封入する技術を使ってエクソソームが持っている標的化機能を利用した新規な生体機能制御法の開発を目指して研究を行っています。

2020 年度は、①モデルとなるタンパク質を発現しない細胞にその遺伝子を導入してその細胞から放出されるエクソソーム中に導入遺伝子由来するシグナルペプチド(SP)フラグメントが検出できたこと(BBRC, 560, pp21-26, 2021)に加え、②遺伝子導入を行っていない複数の細胞由来のエクソソームから特徴的な SP フラグメントを検出することに成功しました。また、③シリカナノ粒子を投与したマウスモデルを用いて肺毒性を解析し、発生する肺毒性が異なるメカニズムを介してそれぞれの粒子の物理化学的特性に依存することを発見したこと(Part Fibre Toxicol. 2021 in press)、④抗線維化作用を有し呼吸器の細胞老化を遮断する活性を持つタンパク質を同定したこと(Eur Respir J, 2021, in press)、⑤抗炎症作用を持つ SP を複数個同定したこと、など多くの進展がありました。

## § 2. 研究実施体制

### (1)「澤田(中核)」グループ

① 研究代表者:澤田 誠 (名古屋大学環境医学研究所、教授)

#### ② 研究項目

- ・ 全体の統括とホットメルト-LMD,ホットメルト-質量分析による各チームの知見の検証
- ・ 質量分析による sEV のペプチドプロファイル分析と EVs の新たな生物学的役割の解明
- ・ ホットメルト LMD 技術で細胞内顆粒を切り出す手法の開発

### (2)「橋本(共同研究 G1)」グループ

① 主たる共同研究者:橋本 直純 (名古屋大学大学院医学系研究科、准教授)

#### ② 研究項目

- ・ 非生物体微粒子誘導炎症モデルマウスにおける細胞外微粒子の解析
- ・ モデルマウスの貪食細胞における非生物体微粒子による変化の解析
- ・ モデルマウスに対する改変型細胞外顆粒投与条件の検討と治療効果の検討

### (3)「吉田(共同研究 G2)」グループ

① 主たる共同研究者:吉田 徹彦 (東亜合成株式会社、フェロー、先端科学研究所所長)

② 研究項目

- ・ シグナルペプチドの新規生理活性機能解析
- ・ シグナルペプチドの合成と安定化修飾
- ・ DDS としての新奇エクソソーム (内包物が軽量化された人工軽量化エクソソーム (iLE:induced Light-weight Exosome)) の創出

(4)「中瀬(共同研究 G3)」グループ

① 主たる共同研究者: 中瀬 生彦 (大阪府立大学大学院理学系研究科、教授)

② 研究項目: 細胞外微粒子の形成・分泌・細胞内移行に関わる機序解明と化学的な制御

- ・ 非生体性微粒子の細胞内移行・シグナル伝達誘導の機序解明 (橋本 G、吉田 G と連携)
- ・ 関連細胞からの細胞内顆粒形成放出過程 (シグナルペプチド関与) の機序解明 (中核 G、橋本 G、吉田 G と連携)
- ・ 細胞外微粒子への機能性分子修飾技術 (橋本 G、吉田 G と連携)
- ・ 改変型細胞外顆粒の作製及び封入技術 (吉田 G と連携)

(5)「宇佐美(共同研究 G4)」グループ

① 主たる共同研究者: 宇佐美 徳子 (高エネルギー加速器研究機構、講師)

② 研究項目

- ・ モデル貪食細胞への X 線マイクロビーム照射による細胞内小胞の除去
- ・ 転移性がん細胞の X 線マイクロビーム照射による形質変化とエクソソーム分析

【代表的な原著論文情報】

- 1) Ono K, Niwa M, Suzuki H, Kobayashi NB, Yoshida T, Sawada M, Secretion of signal peptides via extracellular vesicles, *Biochem Biophys Res Commun*, 560, pp21-26, 2021.
- 2) Inoue M, Sakamoto K, Suzuki A, Nakai S, Ando A, Shiraki Y, Nakahara Y, Omura M, Enomoto A, Nakase I, Sawada M, Hashimoto N. Size and surface modification of silica nanoparticles affect the severity of lung toxicity by modulating endosomal ROS generation in macrophages. *Part Fibre Toxicol*. 2021 In press.
- 3) Nakahara Y, Hashimoto N, Sakamoto K, Enomoto A, Adams TS, Yokoi T, Omote N, Poli S, Ando A, Wakahara K, Suzuki A, Inoue M, Hara A, Mizutani Y, Imaizumi K, Kawabe T, Rosas IO, Takahashi M, Kaminski N, Hasegawa Y. Fibroblasts positive for meflin have anti-fibrotic property in pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*, 2021, in press.
- 4) Nakase I, Aoki A, Sakai Y, Hirase S, Ishimura M, Takatani-Nakase T, Hattori Y, and Kirihata M. Antibody-Based Receptor Targeting Using an Fc-Binding Peptide-Dodecaborate Conjugate and Macropinocytosis Induction for Boron Neutron Capture Therapy. *ACS Omega* 2020, 5, 36, 22731-22738.
- 5) Sakamoto K, Furukawa T, Yamano Y, Kataoka K, Teramachi R, Walia A, Suzuki A, Inoue M, Nakahara Y, Ryu C, Hashimoto N, Kondoh Y. Serum mitochondrial DNA predicts the risk of

acute exacerbation and progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2021 Jan 21;57(1):2001346.