

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

2021年度 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

私たちは独自に開発したホットメルト-質量分析法で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。

2021年度は、①粗面小胞体膜上でN末端の挿入方向が異なるタンパク質を誘導性に細胞に発現させそのエクソソームを分析した結果エクソソームに移行するシグナルペプチドはシグナル配列のうち細胞質側に向いた SPPase 切断フラグメントであること、そのフラグメントがカルモジュリンと結合して多胞体に移行する可能性を示したこと(Int J Molecular Sciences 23: 3137 2022)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検出した特徴的なシグナルペプチドフラグメントが細胞の機能や起源を示すバイオマーカーとなりうる可能性を持っていることを明らかにしました。また、③肺疾患患者から採取した気管支肺胞洗浄液から回収したエクソソームに含有されるミトコンドリア DNA が臨床診断や経過を反映する可能性を見出したこと、④肺の炎症の発症や増悪の原因の一つである肺胞マクロファージが産生する NOX2 の活性を抑制するペプチドに膜透過性配列を組み込んだペプチド医薬が呼吸器疾患の治療に有効である可能性を示したこと、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

【代表的な原著論文情報】

- 1) Signal Sequence-Dependent Orientation of Signal Peptide Fragments to Exosomes. Kenji Ono, Mikio Niwa, Hiromi Suzuki, Nahoko Bailey Kobayashi, Tetsuhiko Yoshida and Makoto Sawada. *Int J Molecular Sciences* 23: 3137 (2022) DOI: [org/10.3390/ijms23063137](https://doi.org/10.3390/ijms23063137)
- 2) Macropinocytosis-Inducible Extracellular Vesicles Modified with Antimicrobial Protein CAP18-Derived Cell-Penetrating Peptides for Efficient Intracellular Delivery. Noguchi K, Obuki M, Sumi H, Klußmann M, Morimoto K, Nakai S, Hashimoto T, Fujiwara D, Fujii I, Yuba E, Takatani-Nakase T, Neundorf I, Nakase I. *Mol Pharm.* 2021 Sep 6;18(9):3290-3301. doi: [10.1021/acs.molpharmaceut.1c00244](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00244).
- 3) Dodecaborate-Encapsulated Extracellular Vesicles with Modification of Cell-Penetrating Peptides for Enhancing Macropinocytotic Cellular Uptake and Biological Activity in Boron Neutron Capture Therapy. Hirase S, Aoki A, Hattori Y, Morimoto K, Noguchi K, Fujii I, Takatani-Nakase T, Futaki S, Kirihata M, Nakase I. *Mol Pharm.* 2022 Apr 4;19(4):1135-1145. doi: [10.1021/acs.molpharmaceut.1c00882](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00882).
- 4) Size and surface modification of silica nanoparticles affect the severity of lung toxicity by modulating endosomal ROS generation in macrophages. Inoue M, Sakamoto K, Suzuki A, Nakai S, Ando A, Shiraki Y, Nakahara Y, Omura M, Enomoto A, Nakase I, Sawada M, Hashimoto N. *Particle and Fibre Toxicology* 18:21, 2021
- 5) Fibroblasts positive for meflin have anti-fibrotic property in pulmonary fibrosis. 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. *Eur Respir J* 2021 Dec 23;58(6):2003397