

## ● 下田 麻子 特定助教

*Asako SHIMODA (Assistant Professor)*

**研究課題:** 細胞外小胞表面糖鎖プロファイリング技術を活用した分離精製技術の開発と疾患の診断・治療への応用

(Development on extracellular vesicle separation method by glycan profile analysis and its applications for therapy and diagnosis)

**専門分野:** 細胞外小胞、バイオマテリアル (Extracellular vesicles, Biomaterials)

**受入先部局:** 医学研究科 (Graduate School of Medicine)

**前職の機関名:** 京都大学医学研究科

(Graduate School of Medicine, Kyoto University)



国際細胞外小胞学会が2011年に、2014年には日本細胞外小胞学会が設立されましたが、私はこの比較的新しい分野である細胞外小胞研究に2013年から携わっています。細胞外小胞とは由来する細胞の情報をコピーし、周囲や遠くの組織へと伝えるメッセンジャーとして知られており、疾患の診断や治療、創薬など多岐にわたる研究が盛んに行われています。一方で、細胞外小胞は大量生産できる市販の医薬品とは異なり、生体由来であるためにサイズや機能が不均一であることから臨床研究レベルでの安全性は明らかになっていません。

私は細胞外小胞の不均一性を解明するため、膜上のタンパク質や脂質の表面を覆う糖鎖に着目して研究を行っています。白眉プロジェクトでは細胞外小胞の表面糖鎖を網羅的かつ単粒子レベルで解析し、生体内でどのような役割を担っているのかを明らかにします。さらに、組織修復や免疫調節機能をもつ間葉系幹細胞由来の細胞外小胞を用い、再生医療や免疫分野における応用を目指します。

The International Society for Extracellular Vesicles (ISEV) was formed in 2011, and I have been involved in EV research since 2013. EVs are cell-derived vesicles, known as messengers which copy biological information from their cells of origin and send it to nearby and distant organs. EVs are applied in a wide variety of fields including disease diagnosis, treatment, and drug discovery. On the other hand, unlike small molecule drugs capable of being mass-produced, EVs have non-uniform sizes and functions because they are derived from living organisms, and therefore the safety and efficacy of EVs have not been clarified at the clinical research level.

To unravel the heterogeneity of EVs, I have been focused on the role of glycans on EVs. In this HAKUBI project, I will conduct comprehensive and single analyses of surface glycans on EVs, and clarify what role they play in living organisms. Furthermore, mesenchymal stem cells-derived EVs are used for application in the fields of regenerative medicine and immunology.

## 細胞外小胞

## ～細胞同士のコミュニケーションツール～

我々ヒトをはじめとする多細胞生物は、生命を維持するために細胞同士がさまざまな方法で情報を伝達しています。そのうちのひとつが細胞外小胞と呼ばれるナノ～マイクロサイズの微粒子を介した方法です。細胞外小胞はあらゆる細胞が分泌する物質で、由来細胞の脂質、タンパク質、核酸から構成されています。血液や唾液、尿などの体液中に存在することが知られており、これらを介して近くの細胞や遠隔の臓器に情報

を伝達していることがわかっています。特に、疾患の診断や治療において注目を集めており、例えばがんの早期発見や転移・再発の予防に重要な役割があると考えられています。また、さまざまな種類の細胞への多分化能をもつ間葉系幹細胞は再生医療分野で用いられていますが、この細胞から分泌される細胞外小胞も同様の効果があると期待されています (図1)。

## 医療応用の実現に向けた課題

細胞外小胞を治療用製剤として用いる場合、安全か

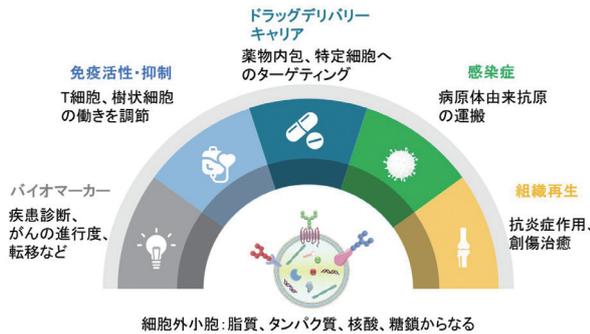


図1 細胞外小胞の応用研究例

つ有効性の保証、生産量といった品質管理が求められます。化学合成によって製造される低分子医薬品は複製が可能であるのに対し、細胞外小胞は生体由来であるため、単純な工程ではサイズや機能もバラバラな微粒子しか得ることができません。体液中にはさまざまな細胞由来の細胞外小胞が混在していることに加え、同じ細胞から分泌される細胞外小胞も不均一性をもつ粒子の集団であることが報告されています。最近では特に自由診療で安易に細胞外小胞を投与する行為が世界的にも問題になっており、令和5年1月17日には独立行政法人医薬品医療機器総合機構が「エクソソームを含む細胞外小胞を利用した治療用製剤に関する報告書」を公開しています。まだ不明な点も多い細胞外小胞研究において、この多様性を示す粒子の集団を精製し、機能ごとに分離する技術を開発することが極めて重要であると考えられます。

## 細胞外小胞と糖鎖

私は細胞外小胞の多様性を解明するため、構成因子のひとつである表面の「糖鎖」に着目して研究を行っています。糖鎖は細胞表面のタンパク質や脂質に結合し、細胞接着、細胞分化、免疫調節、ウイルスやバクテリアの感染などさまざまな生命現象に関与しています。細胞外小胞表面も糖鎖で覆われており、細胞との相互作用において重要な機能を持つと考えられますが、その他の構成因子である脂質、タンパク質、核酸に比べて情報量が少ないのが現状です。糖鎖は構造が複雑であることから解析法が困難であるというのが一番の原因であると考えられています。私はこれまでに、糖鎖と相互作用するレクチンを並べたガラスアレイ（レクチンマイクロアレイ）を用いて、細胞外小胞の表面

の糖鎖パターンをリアルタイムで網羅的に解析することに成功しています<sup>1,3</sup>。その結果、もとの細胞の種類や粒子のサイズ、細胞外小胞の回収方法の違いによって糖鎖パターンが異なることを明らかにしました。また、表面の糖鎖を切り取ったり貼り付けたりとリモデリングすることで細胞との相互作用をコントロールできることを報告しています。

## 表面糖鎖を利用した分離法の開発と医療応用に向けて

本研究では、糖鎖とレクチンの相互作用を基盤とした、細胞外小胞をサイズや機能ごとに分離精製する手法を開発します。細胞外小胞に共通して結合するレクチン、もしくはある特定の集団に結合するレクチンを同定することで、網羅的・特異的な分離が可能になると予想されます。また、これまでに用いてきたレクチンマイクロアレイ法は集団をまとめて解析する手法ですが、新たに単粒子レベルでの解析法としてイメージングフローサイトメーターを用いることで、一粒子ずつ糖鎖とレクチンの相互作用を解析します。この手法によりさらなる正確な識別が可能となり、医療応用への課題である細胞外小胞の多様性の解明につながると考えられます。

## 参考文献

1. A. Shimoda; K. Akiyoshi, Surface Glycan Profiling of Extracellular Vesicles by Lectin Microarray and Glycoengineering for Control of Cellular Interactions. *Pharm Res.*, 40, 4, 795-800, 2023.
2. A. Shimoda; R. Miura; H. Tateno; N. Seo; H. Shiku; S. Sawada; Y. Sasaki; K. Akiyoshi, Assessment of Surface Glycan Diversity on Extracellular Vesicles by Lectin Microarray and Glycoengineering Strategies for Drug Delivery Applications. *Small Methods*, 6, 2, 2100785, 2022.
3. A. Shimoda; Y. Tahara; S. Sawada; Y. Sasaki; K. Akiyoshi, Glycan profiling analysis using evanescent-field fluorescence-assisted lectin array: Importance of sugar recognition for cellular uptake of exosomes from mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 491, 701 - 707, 2017.