

日経バイオテク記事

<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/news/p1/16/02/28/00296/>

北大、エクソソームがアミロイド β を除去する機構を研究中
アルツハイマー病患者の髄液中エクソソームも解析

2016年2月29日 00:21

久保田文



五十嵐特任教授（右）と湯山特任准教授



北海道大にあるシオノギ創薬イノベーションセンター

加齢に伴い発症するアルツハイマー型認知症では、患者の脳内にアミロイド β ($A\beta$) が蓄積、沈着することが知られている。近年、神経細胞が産生、放出したエクソソームに $A\beta$ が捕捉され、脳内でごみ処理を担当するマクログリア

に運ばれて分解されていることが明らかになってきた。研究を手掛ける北海道大学大学院先端生命科学研究院生体機能化学研究室の五十嵐靖之特任教授と湯山耕平特任准教授が、2016年2月5日、本誌の取材に応じた。

——エクソソームの研究を始めたきっかけは。

(湯山特任准教授)「4、5年前から、エクソソームによるA β の除去がアルツハイマー型認知症の治療法開発につながるのではないかと考え、エクソソームの研究を行っている。国立長寿医療研究センターで神経細胞の培養上清にスフィンゴ脂質が含まれており、解析してみたところ、その正体はスフィンゴ脂質を発現するエクソソームであることが分かった。質量分析により、その脂質の特性を解析したところ、スフィンゴ糖脂質 (glycosphingolipid : GSL) という一群の脂質であることが判明。神経細胞に発現するGSLに比べ、エクソソームに発現するGSLが10倍ほど多いことも分かった」

「GSL、特にガングリオシドと呼ばれるシアル酸を含むGSLは、以前からA β が結合することが知られており、エクソソームとA β の結合性を調べたのがエクソソームの研究を始めたきっかけだ」

——2014年8月、アルツハイマー病のモデルマウスの脳内にGSLを含有するエクソソームを投与したところ、A β の沈着が減少したとする研究成果を *The Journal of Biological Chemistry* 誌に発表した。

(湯山特任准教授)「我々は、神経細胞が放出するエクソソームがA β と結合しているのではないかと考えた。そこで、エクソソーム膜上のGSLを分解酵素のエンドグリコセラミダーゼ (EGCase) で切断するとエクソソームとA β の結合が阻害され、また、ガングリオシドに対する抗GM1抗体などを含む抗GSL抗体を添加すると、エクソソームとA β の結合が抑えられた。さらに、神経細胞やグリア細胞、オリゴデンドロサイト、アストロサイトなどのエクソソームを比較し、脂質解析を行うと、神経細胞由来エクソソームで最も多くのGSLが発現しており、神経由来エクソソームにのみA β 結合性も認められた。また、神経細胞由来のエクソソームは直径が50nmから150nmと比較的そろっていることが明らかになった」

「*in vitro* でアミロイド前駆体蛋白質 (APP) を産生する神経細胞と、マイクログリアを共培養し、蛍光標識エクソソームを添加するとGALを介してA β を補捉。その後、マイクログリアに取り込まれてA β が分解されることが分かった」

(五十嵐特任教授)「エクソソーム上には、アポトーシス細胞などしか露出し

ていないフォスファチジルセリン (PS) が反転し、細胞外に露出していることから、マイクログリア上の PS 受容体に結合して取り込まれ、リソソームに輸送され分解されるとみられている。また、エクソソームの A β との結合は、GSL が高密度に密集し、クラスターを作るドメイン (脂質ラフト) で起きると考えられている」

(湯山特任准教授)「そこで我々は、エクソソームの A β 除去機能を調べるため、神経細胞の培養上清から超遠心でエクソソームを回収。APP を過剰発現する組換えマウスの側脳室に浸透圧ポンプを用いて 2 週間持続的に静注。病理を解析した。その結果、海馬領域で A β 濃度が低下しており、シナプス傷害の抑制が誘導され、A β の沈着が抑えられることが分かった」

——最近では、加齢に伴いエクソソーム濃度が低下することも突き止めた。

(湯山特任准教授)「生後 2、3 カ月から、23 カ月齢の APP を過剰発現する組換えマウスから脳脊髄液を採取し、超遠心でエクソソームを回収し、ナノパーティクル解析装置で濃度を測定した。その結果、脳組織中の A β 濃度は加齢に伴い減少し、脳組織中の A β 濃度は上昇することが分かった。A β を蓄積するカニクイザルでも同様で、髄液中のエクソソームは加齢に伴って減少する。現在は、北海道大医学部との共同研究でアルツハイマー型認知症患者の髄液中のエクソソームの量と糖脂質の量を解析しているところだ」

「もっともそれらのエクソソームは神経細胞由来以外にも様々なエクソソームが混ざったものだ。神経細胞由来エクソソームのマーカーとして膜蛋白質の N-CAM1 が知られている。今後はサルやヒトの髄液からエクソソームを単離して、N-CAM1 を発現するものがどの程度あるか調べてみたい。血液中のエクソソームでも相関が見られる可能性はある」

——加齢によって発症したアルツハイマー型認知症にエクソソーム濃度の低下はどの程度寄与しているのか。

(湯山特任准教授)「正常な脳内では、エクソソームがごみ処理のトラックのように A β をマイクログリアに運び、処理していると推測される。ただ、アルツハイマー型認知症の患者の脳内では、加齢によりエクソソーム濃度が低下したり、また、マイクログリアの活性が落ちて、A β が蓄積、沈着している可能性がある。もっともエクソソームの寄与度は分からない。ネプリライシンなど、A β を分解する機能を持つ存在は他にもある」

——どのような治療戦略が考えられるか。

(五十嵐特任教授)「A β の補捉・分解を促進するコンセプトが考えられる。

そのコンセプトには製薬企業も興味は示すものの、エクソソーム自体を投与するのは薬事戦略上、現実的ではない。神経細胞の培養上清からエクソソームを回収したとしても、規格を一律にそろえるのが簡単ではないからだ。仮に現在使われている機器で粒子のサイズを一定の範囲内に収めるとしても前処理だけで数百万円掛かる」

「となると、神経細胞内のエクソソーム（内因性のエクソソーム）の産生を上げるのが現実的だ。一般にエンドソームの膜上にセラミドが豊富だと内因性エクソソームが増えやすいので、セラミドそのものを細胞内に導入したり、セラミドを産生する酵素を増やす化合物を投与するといったアプローチが考えられる。また、アルツハイマー型認知症は長期にわたって A β が蓄積し、発症するため、エクソソームの産生や放出を増やす食品に含まれる成分を同定。食品を予防的に摂取することも考えられる」

「脳血液関門を通るリポソームなどに GSL を発現させて、神経細胞由来エクソソームをミミックすることも考えられるだろう。または経鼻投与で脳内に投与するアプローチもあり得るだろう」

——05 年度から文部科学省の先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラムに採択されている。

（五十嵐特任教授）同プログラムの下、未来創薬・医療オープンイノベーションプラットフォームを運営している。塩野義製薬、日立製作所、住友ベークライト、日本メジフィジックス、三菱重工業が協働機関となり、実施期間は 10 年間だ。同事業に参加している塩野義製薬とは、産学協同で新薬のシーズを見いだす活動を続けてきた。08 年 5 月にできたシオノギ創薬イノベーションセンターには、塩野義製薬から約 20 人の研究者が常駐。『脂質と糖に基づく創薬開発』『構造に基づく創薬開発』を進めてきた。ただ、2015 年度末で同事業は終了する」

——今後の課題は。

（五十嵐特任教授）「研究費の確保が一番の課題だ。2016 年 4 月から北海道大に開設される寄付講座でエクソソームを標的とした機能性食材、機能性成分を研究する計画だ。ただ、新しいアルツハイマー型認知症の治療戦略になるので、創薬の研究開発も続けたいと考えている。もっとも、2016 年度以降、このテーマについて塩野義製薬と共同研究を行うかは決まっていない」