



## モデル動物へのエクソソーム投与による

### 脳内アミロイドβ蓄積の軽減

#### ～アルツハイマー病予防，治療への新しい可能性～

#### 研究成果のポイント

- ・ 研究の背景として，アルツハイマー病の発症原因の一つは，アミロイドベータ (Aβ) というペプチドがかたまりを形成し，脳内に沈着して蓄積すること (=アミロイド斑<sup>1)</sup> ができる) がわかっている。
- ・ 神経培養細胞由来のナノ顆粒である「エクソソーム」<sup>2)</sup> を投与すると，アルツハイマー病モデルマウス脳内のアミロイドベータペプチド (Aβ)<sup>3)</sup> の濃度が低下し，Aβ が固まってできるアミロイド斑の蓄積を阻害することがわかった。
- ・ エクソソームへの Aβ の吸着にはエクソソーム膜のスフィンゴ糖脂質<sup>4)</sup> 糖鎖が関与している。
- ・ モデル動物を使用したこれらの新しい知見により，エクソソームがアルツハイマー病の病態発現に関与している可能性とともに，エクソソームを介した新たな予防，治療法開発に繋がることが期待される。

#### 研究成果の概要

アルツハイマー病の発症原因の一つは，アミロイドベータ (Aβ) というペプチドがかたまりを形成し，脳内に沈着して蓄積することです。研究チームはこれまでに Aβ がエクソソームと呼ばれる細胞由来の微小顆粒 (直径 50-100nm) に結合すること，このエクソソーム結合性 Aβ はミクログリア<sup>5)</sup> に取り込まれて分解されうることを，培養細胞を用いた実験系で明らかにしていました。

本研究では，アルツハイマー病モデルマウスを用いて，エクソソームの Aβ 除去機能が生体内でも発揮されるか検討しました。その結果，培養神経細胞の培養液中から採取したエクソソームを，浸透圧ポンプを用いて 2 週間脳内へ持続投与すると，Aβ 濃度の低下，シナプス障害の軽減，アミロイド蓄積の減少が引き起こされることが初めて実証されました。また，エクソソームには由来細胞と比較して膜糖脂質の一種であるスフィンゴ糖脂質が豊富に含まれ，この糖脂質糖鎖を介して Aβ がエクソソームと結合することも明らかにしました。本研究でのモデル動物を使ったエクソソームの脳内 Aβ 除去機能の発見は，アルツハイマー病の治療や予防に，既存の研究や開発とはまったく異なる新たな概念と切り口を提供できる可能性を示しています。

なお，本研究は文部科学省先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「未来創薬・医療イノベーション拠点形成」(北海道大学)の一環として行われました。

## 論文発表の概要

研究論文名 : Decreased Amyloid- $\beta$  Pathologies by Intracerebral Loading of Glycosphingolipid-enriched Exosomes in Alzheimer Model Mice (アルツハイマー病モデルマウスにおいてスフィンゴ糖脂質含有エクソソーム脳内投与により誘起されるアミロイド $\beta$ 病態の軽減)

著者 : 湯山耕平, 孫慧, 酒井祥太, 古川潤一, 藤谷直樹, 篠原康郎, 五十嵐靖之 (北海道大学), 光武進 (佐賀大学), 岡田恵, 田原栄俊 (広島大学)

公表雑誌 : The Journal of Biological Chemistry

公表日 : 米国東部時間 2014年7月18日 (オンライン版)

## 研究成果の概要

### (背景)

アルツハイマー病は老年期の主要な認知症性疾患であり, 現在早急な予防法・治療法の確立が望まれています。アルツハイマー病発症には様々な要因が関与していますが, 脳内での AB 濃度の上昇や蓄積増加が主な原因と考えられおり, 脳内の AB レベルを制御することが治療・予防戦略の一つとして有望視されています。私たちはこれまでに, 神経細胞から放出される二重膜で構成されたナノ顆粒“エクソソーム”が AB を除去する能力をもつことを培養細胞を用いた実験で明らかにしてきましたが (JBC 2012, 2012年2月プレスリリース), 実際に脳内の AB に対して効果をもつのが課題となっていました。本研究ではアルツハイマー病モデルマウスへのエクソソーム脳内投与などの手法を用いてこの課題に取り組みました。

### (研究手法)

今回, 神経細胞由来培養細胞から培養液中に分泌されたエクソソームと, アルツハイマー病モデルマウスとして脳内で AB を過剰発現する APP トランスジェニックマウスを実験に使用しました。浸透圧ミニポンプを用いてマウス脳へエクソソームを2週間持続的に注入し, 投与後 AB 病理を解析しました。糖スフィンゴ脂質組成に関しては質量分析を用いたプロファイル解析を行いました。

### (研究成果)

アルツハイマー病モデルマウス脳に投与されたエクソソームには内因性 AB が結合し, エクソソーム結合性 AB の大部分はミクログリアに取り込まれることが観察されました。4カ月齢と12カ月齢マウスへのエクソソーム脳内持続投与の結果, 海馬領域での AB 濃度の低下, シナプス障害の抑制, アミロイド斑の減少が観察されました。また, 糖脂質分析の結果, エクソソームは由来細胞と比較して多量の糖スフィンゴ脂質を含有しており, 特にシアル酸をもつガングリオシド<sup>6)</sup>と呼ばれる糖脂質を多く発現していました。AB のエクソソームへの結合はこの糖脂質の糖鎖を介したものであることも明らかになりました。

### (今後への期待)

脳内 AB 量の抑制は現在アルツハイマー病の有効な治療・予防戦略とされており, 本研究で得られた新たな知見は新規の方法論を提供できる可能性があります。現在は, 脳内エクソソーム産生制御法の開発や, AB 除去を目的としたエクソソーム様リポソーム<sup>7)</sup>の作製を視野に入れた取り組みを進めています。また, アルツハイマー病脳内でのエクソソームの状態を調べるため臨床検体を用いた検討を始めています。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院先端生命科学研究院

特任助教・湯山 耕平 (ゆやま こうへい)

TEL: 011-706-9047 FAX: 011-706-9047 E-mail: kyuyama@pharm.hokudai.ac.jp

特任教授・五十嵐 靖之 (いがらし やすゆき)

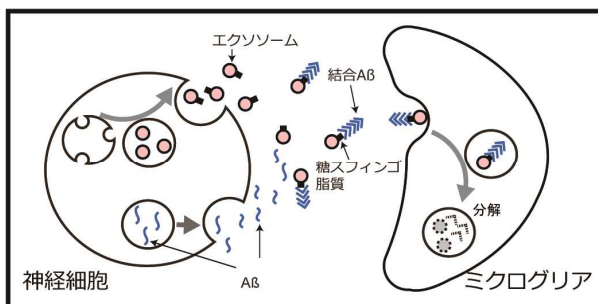
TEL: 011-706-9001 FAX: 011-706-9001 E-mail: yigarash@pharm.hokudai.ac.jp

ホームページ: <http://biomem.pharm.hokudai.ac.jp>

### 【用語解説】

- 1) アミロイド斑：AB が凝集してアミロイド構造を形成して脳内に沈着したもの。ヒトでは老人斑と呼ばれ、アルツハイマー病の主要病理となっている。
- 2) エクソソーム：様々な種類の細胞から分泌される二重膜小胞。特定の分子を包み、細胞間で受け渡すキャリアーの役割を担う。
- 3) アミロイドベータペプチド (AB)：アミロイドβ前駆体タンパク質から切断されて産生される約40アミノ酸からなる生理的ペプチド。アルツハイマー病では、このペプチドの過剰な蓄積がアルツハイマー発症の引き金と考えられている。
- 4) スフィンゴ糖脂質：スフィンゴイドに脂肪酸が結合したセラミドを共通構造とした複合脂質(スフィンゴ脂質)に、糖がグリコシド結合したもの。
- 5) ミクログリア：脳脊髄中に存在するグリア細胞の一種。マクロファージ様の食作用を示す。
- 6) ガングリオシド：糖鎖上に一つ以上のシアル酸(N-アセチルノイラミン酸)を含むスフィンゴ糖脂質の一種。現在数十種類が知られており、特に神経細胞に多く発現がみられる。
- 7) リポソーム：細胞膜を模してつくられた脂質で構成される人工の小胞。様々な脂質成分で作製することができ、また水溶性、脂溶性薬剤を包含させることも可能。

### 【概念図】



### エクソソーム投与による脳内AB除去

エクソソームと AB は共に神経細胞で産生され、細胞外へ分泌されます。エクソソームは膜表面のスフィンゴ糖脂質を介して AB を補足し、ミクログリアへ運び、分解します。APP トランスジェニックマウス脳内へエクソソームを持続投与すると、海馬領域において AB 量の減少が観察されました。