

就実大学 薬学部
山崎 勤

キーワード：
新型コロナウイルス、エクソソーム



住所：岡山県岡山市中区西川原 1-6-1
☎：086-271-8438
✉：tyamasaki@shujitsu.ac.jp

研究内容：

方法

■細胞培養

5%CO₂存在下で48時間培養



細胞	新規幹細胞	皮膚繊維芽細胞
培地	Primate ES cell Medium	FBS含有DMEM

■エクソソームの分離

- ①新規幹細胞の上清中のエクソソームを0.22μmフィルターを用いてデブリを除去
- ②次に、アミコンウルトラ10 kDaを用いて、4000 rpmで10分間遠心し濃縮と洗浄を行い、分離した

■フローサイトメトリー解析

- ①それぞれ一次抗体と二次抗体を1時間反応させる

一次抗体	マウス抗CD81モノクローナル抗体	ウサギ抗ACE IIポリクローナル抗体
二次抗体	FITC 標識のヤギ抗マウスIgG抗体	PE標識のウサギ抗マウスIgG抗体

※CD81: エクソソームマーカー

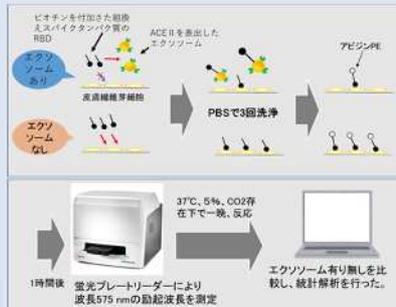
②分離したエクソソームに①を1時間反応させる。



③Flow Cytometerにより測定

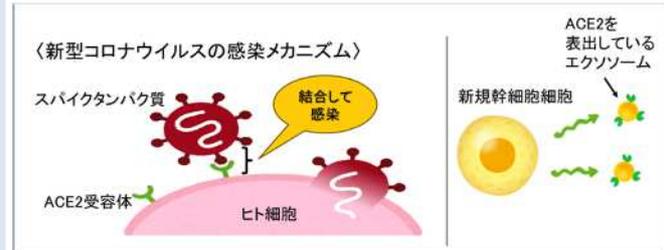
(FITC:励起波長:498 nm、蛍光波長:522 nm、PE:励起波長:488 nm、蛍光波長:578 nm)

■リガンドアッセイ



研究の目的・背景：

現在、新型コロナウイルスが引き起こした新型コロナウイルス感染症（COVID-19）がパンデミックを引き起こすなど問題になっている。新型コロナウイルスなどの表面に見られる「トゲ」の部分スパイクタンパク質と呼ぶ。スパイクタンパク質は、約1100~1400個のアミノ酸から構成される高糖化された膜貫通タンパク質である。スパイクタンパク質の一部である受容体結合ドメイン（RBD）、ヒト細胞表面のアンジオテンシン変換酵素II受容体（ACE II）と結合することで感染を引き起こされる。ACE IIは、細胞の表面にあるタンパク質であり、新型コロナウイルスは重症急性呼吸器症候群（SARS）コロナウイルスのACE IIへ結合するより2~4倍も強いと推定されている。

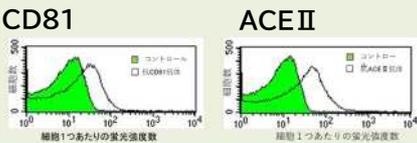


我々の研究室では、ヒト間葉系幹細胞（hMSC）から新規幹細胞を樹立した。hMSCはエクソソームを大量に放出することが知られており、このhMSCから樹立した新規幹細胞もまた、エクソソームを数多く放出していることが分かっている。さらに、この新規幹細胞は細胞表面にACE II を表出していることが明らかになった。そこで本研究ではスパイクタンパク質のターゲット先であるACE II に注目し、新規幹細胞のACE II を発現するエクソソームを用いて、新型コロナウイルスの感染阻害を試みることを検討した。

結果

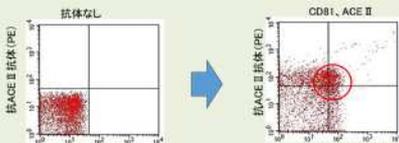
■フローサイトメトリー解析

〈それぞれの抗体〉



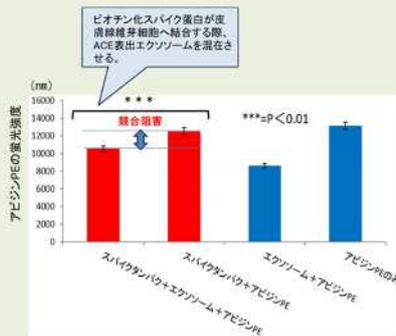
上清中にエクソソームと、さらにはACEを表出する粒子があることが分かる。

〈二重染色〉



CD81とACE IIが今日染色していることから、エクソソーム上に、ACE II が表出している。

■リガンドアッセイ



新規幹細胞のACE II を表出しているエクソソームがスパイクタンパク質と皮膚繊維芽細胞が結合するのを競合阻害した

期待される効果・応用分野：

新型コロナウイルス感染症に対する予防策はワクチンが主流だが、このエクソソームを利用した予防法は、ワクチンの接種以外にも、鼻や喉への噴霧など注射以外の方法でも効果が出る可能性がある。そのため、より身近な予防法としての効果が期待される。

アピールポイント：

RNAウイルスである新型コロナウイルスは、変異株でスパイクタンパク質が変異すると、スパイクタンパク質をターゲットとした、ワクチンの効果も薄れてしまう可能性がある。しかしながら、ACE II を表出している新規幹細胞のエクソソームを用いることで、スパイクタンパク質が変異した新型コロナウイルスの感染の予防薬として役立つことが考えられる。

つながりたい分野：

製薬企業 医療品企業など

まとめ

