

# 疾患に関連するエクソソームの 選択的分解・除去技術

鳥取大学 農学部 生命環境農学科  
准教授 岩崎 崇

2024年3月5日

# 従来技術とその問題点①

がん治療に使用される従来の抗体医薬としては、**抗HER2抗体医薬ハーセプチン**などがあるが、がん細胞が分泌する**HER2陽性エクソソーム**が**抗体医薬の薬効を阻害する**ため、抗体医薬の薬効低下や、抗体医薬の使用量増加に伴う医療費の高額化が問題とされている。

## 従来技術とその問題点②

従来のエクソソーム除去技術としては、  
**Aethlon Medical Introduces 社の人工透析  
(血液透析) 装置「HER2osome」**があるが、  
長時間の透析に起因する**患者QOL低下**などの  
問題があり、広く利用されるまでには至って  
いない。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点①であった、**エクソソームによる抗体医薬の薬効阻害**を改善することに成功した。
- 従来技術の問題点②であった、**人工透析（血液透析）装置**を使わない技術の開発に成功した。
- 本技術の適用により、**①抗体医薬の使用量の軽減（医療コストの削減）**や、**②患者QOLの改善**が期待される。

# 想定される用途

- ① 本技術は、抗体医薬の投与前に使用することで、**抗体医薬の促進剤・補助剤**として使用できると考えられる。
- ② 疾患に関連するエクソソームを除去することで、**疾患の治療・予防効果**が得られることも期待される。
- ③ エクソソームに限定せず、**細胞外の標的タンパク質などの選択的分解・除去技術**に展開することも可能である。

# 疾患に関連するエクソソームの 選択的分解・除去技術の詳細について

## 【背景と課題】

ヒト血中の**エクソソーム**は**疾患の原因物質**であると同時に、**抗体医薬の阻害物質**でもある。しかし、エクソソームは細胞間の重要なコミュニケーションツールでもある。

## 【ニーズ】

血中から疾患に関連する**特定のエクソソームだけを選択的に除去する技術**があれば、新たな治療戦略を創出できる。

## 【手法】

独自素材である**細胞膜透過性・リソソーム移行性ペプチド**をエクソソームに選択的に修飾し、細胞外の**エクソソーム**を細胞内リソソームへ**輸送・分解する技術**を開発する。

# エクソソームと疾患

## エクソソーム

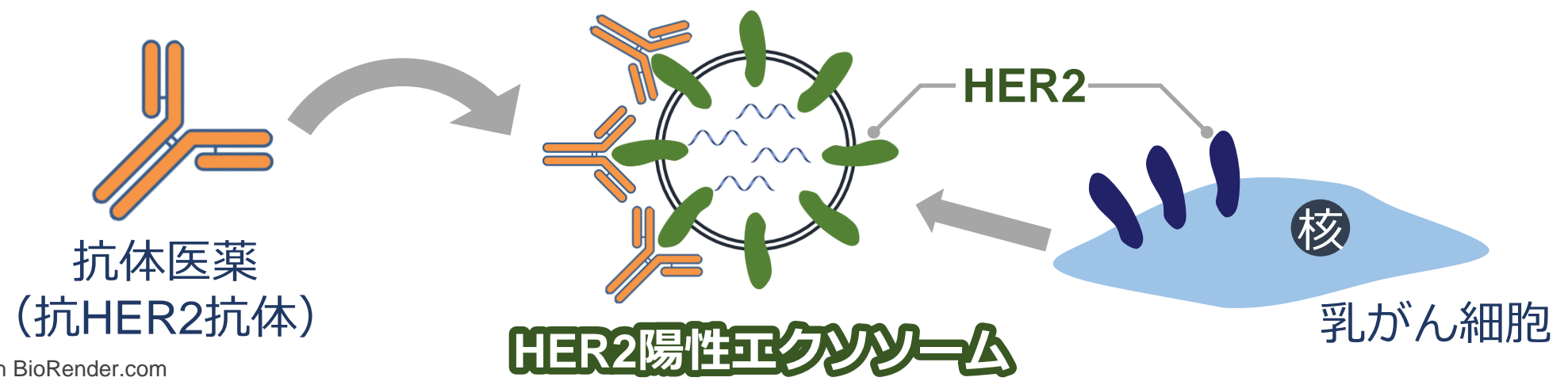
細胞間の情報伝達を担う直径50~100 nmほどの細胞外小胞  
mRNAやmiRNAを含有し、様々なタンパク質を表出している



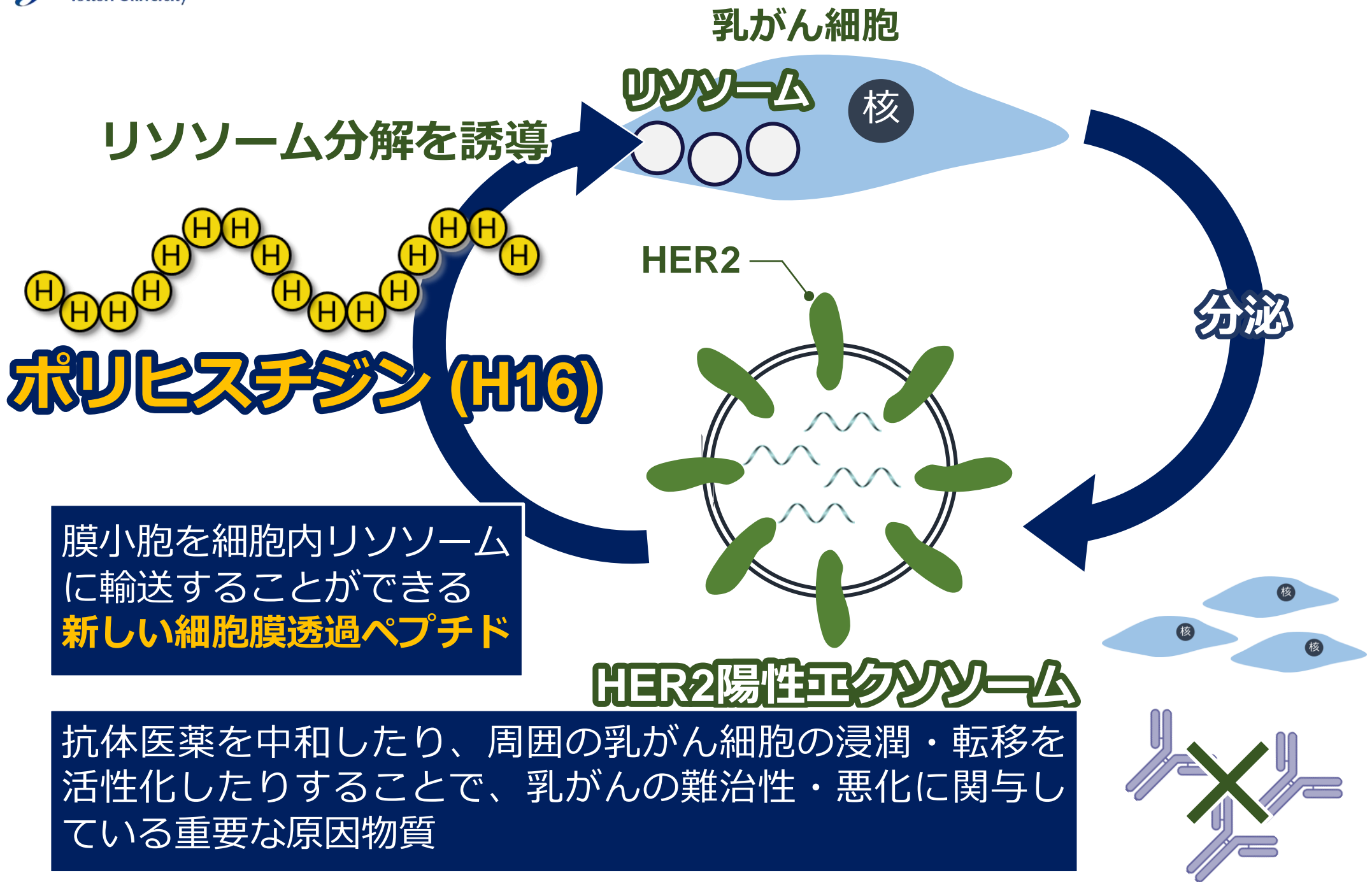
## エクソソームと疾患の関係性

例) HER2陽性エクソソーム

抗体医薬を中和したり、周囲の乳がん細胞の浸潤・転移を活性化したりすることで、乳がんの難治性・悪化に関与している重要な原因物質



# エクソソーム除去技術の概要





# 細胞膜透過ペプチド：ポリヒスチジン (H16)

特徴	従来の細胞膜透過ペプチド	ポリヒスチジン (H16)
アミノ酸配列	アルギニン／リジンを豊富に含む塩基性アミノ酸配列 TAT (GRKKRRQRRRPPQ) R8 (RRRRRRRR)	ヒスチジンのみで構成されるアミノ酸配列 <b>H16 (HHHHHHHHHHHHHHHH)</b>
細胞膜透過能	高い	<b>非常に高い</b>
分子輸送能	タンパク質 膜小胞 核酸	タンパク質 <b>膜小胞</b>
血清安定性	低い 血清タンパク質により細胞膜透過が抑制される	高い 血清タンパク質により細胞膜透過が全く抑制されない
細胞内局在	細胞質	<b>リソソーム</b>

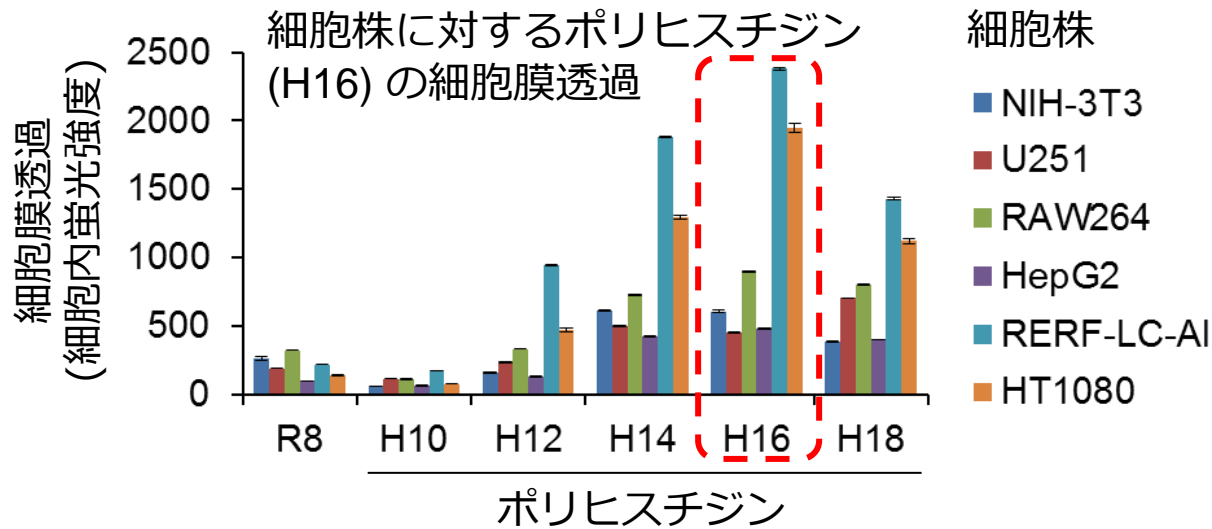
特許第6202707号 新規細胞膜透過ペプチド

T. Iwasaki, et al. (2015) *J. Control. Release*, **210**, 210-224

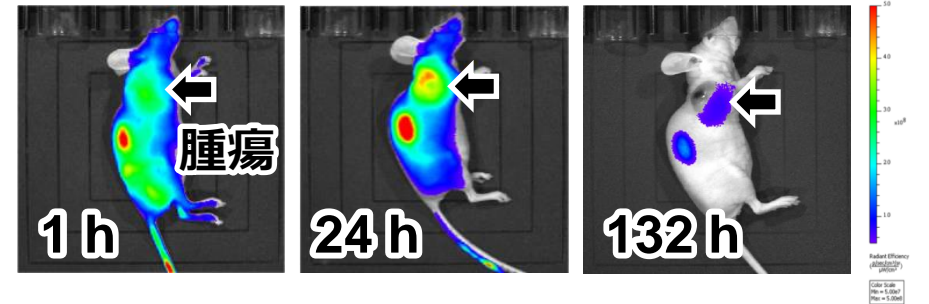
T. Hayashi, et al. (2018) *BBRC*, **501**, 648-653

# 細胞膜透過ペプチド：ポリヒスチジン (H16)

## ポリヒスチジン (H16) の特徴

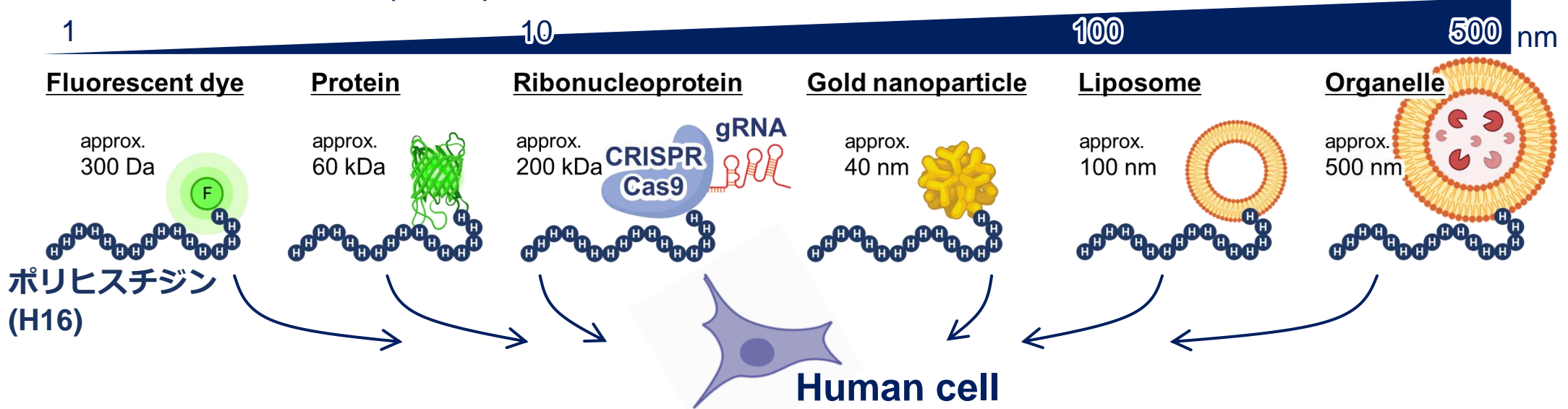


ポリヒスチジン (H16) の生体内挙動  
矢印は腫瘍組織に集積したポリヒスチジン (H16)を示す。



Iwasaki, T., et al. (2015) *J. Control. Release*, **210**, 115-124.

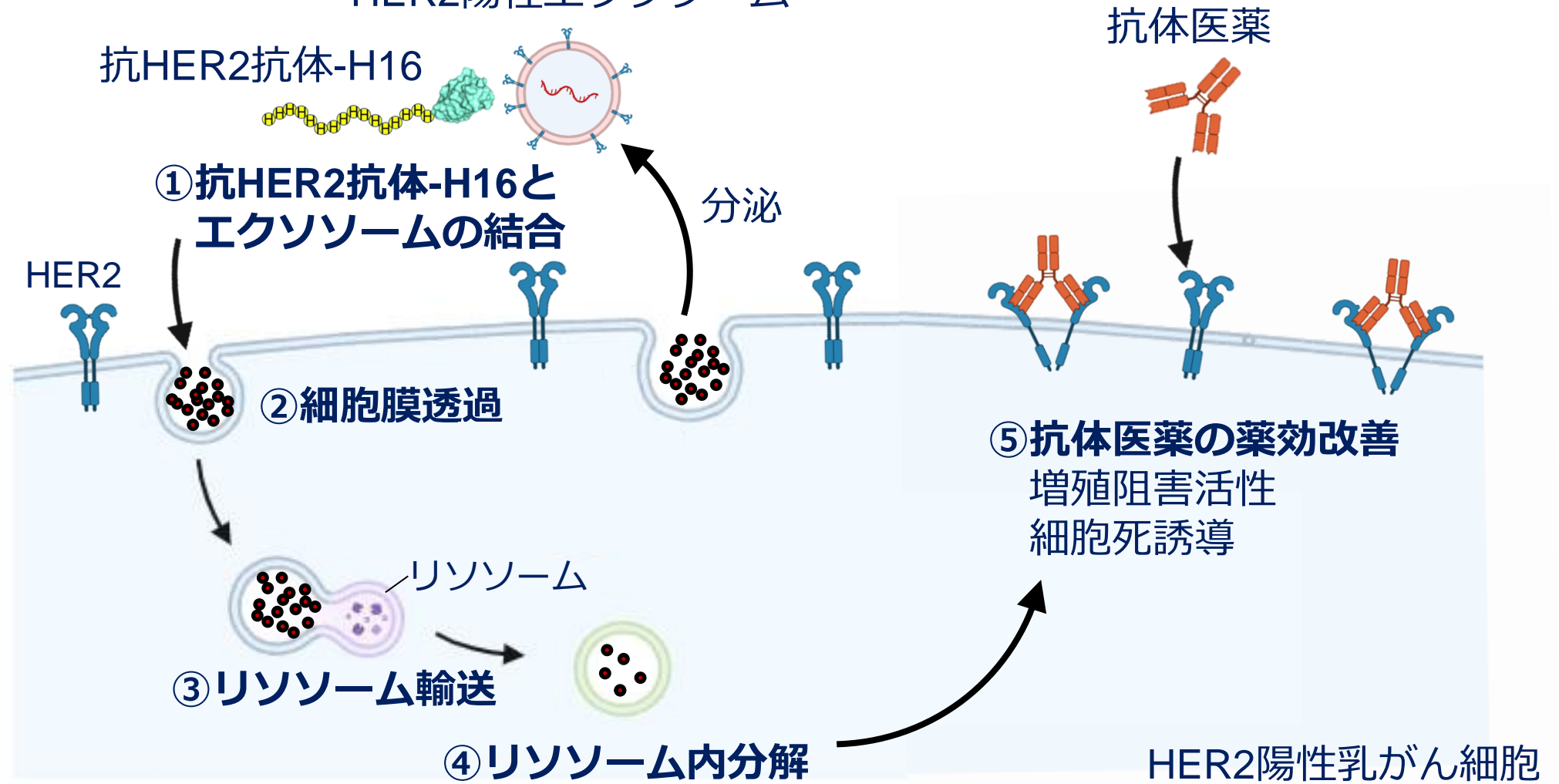
## ポリヒスチジン (H16) による細胞内分子輸送技術



Kimura, S., et al. (2017) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **81**, 112-118; Hayashi, T., et al. (2018) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **501**, 648-653; Hayashi, T., et al. (2019) *Molecules*, **24**, 2995; Iwasaki, T., et al. (2020) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **533**, 905-912; Tanaka, Y., et al. (2021) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **85**, 1405-1414; Hori, K., et al. (2022) *J. Biotechnol.*, **354**, 34-44; JP6202707; JP6961202; PCT/JP2021/046845

# エクソソーム除去技術の概要

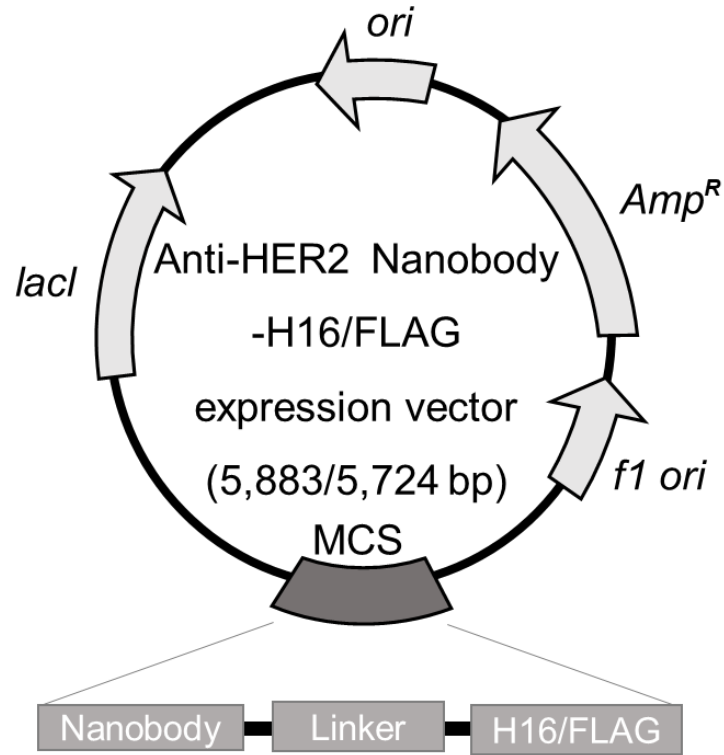
## HER2陽性エクソソーム



HER2陽性エクソソームにポリヒスチジン (H16) を選択的に修飾し、HER2陽性エクソソームを細胞内リソソームに輸送・分解することで、標的エクソソームを選択的に除去し、抗体医薬の薬効を改善する

# 抗HER2小型抗体Nb-H16/FLAGの調製

## Nb-H16/FLAG大腸菌発現プラスミド



### Anti-HER2 Nanobody-H16(Nb-H16)

```

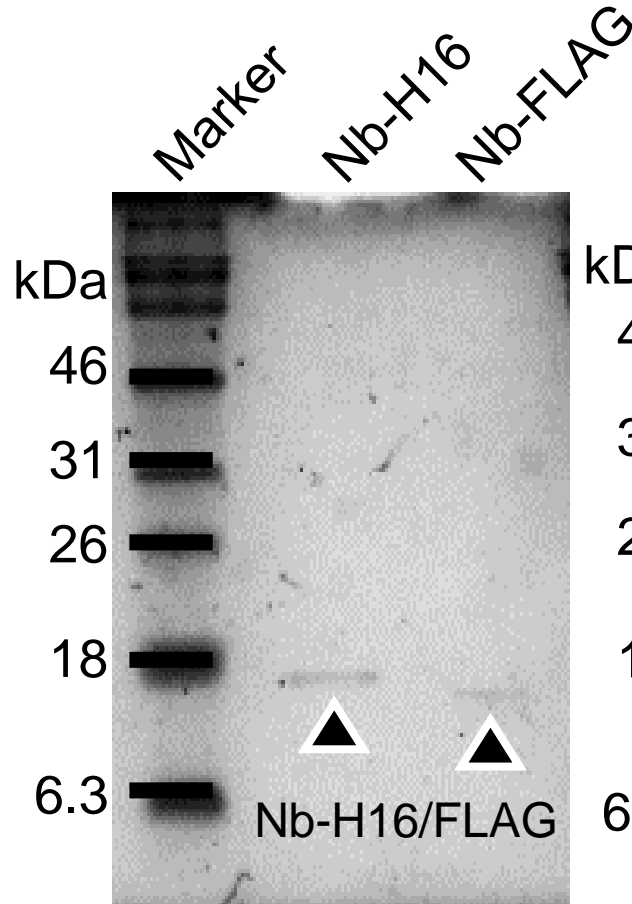
1  MQVQLQESGGGSVQAGGSLKLTCAASGYIFNSCGMGWYRQSPGRERELVS
51  RISGDGDTWHKESVKGRFTISQDNVKKTLYLQMNLSLKPEDTAVYFCAVCY
101 NLETYWGQGTQVTVSSGGSGGHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHH
  
```

### Anti-HER2 Nanobody-FLAG(Nb-FLAG)

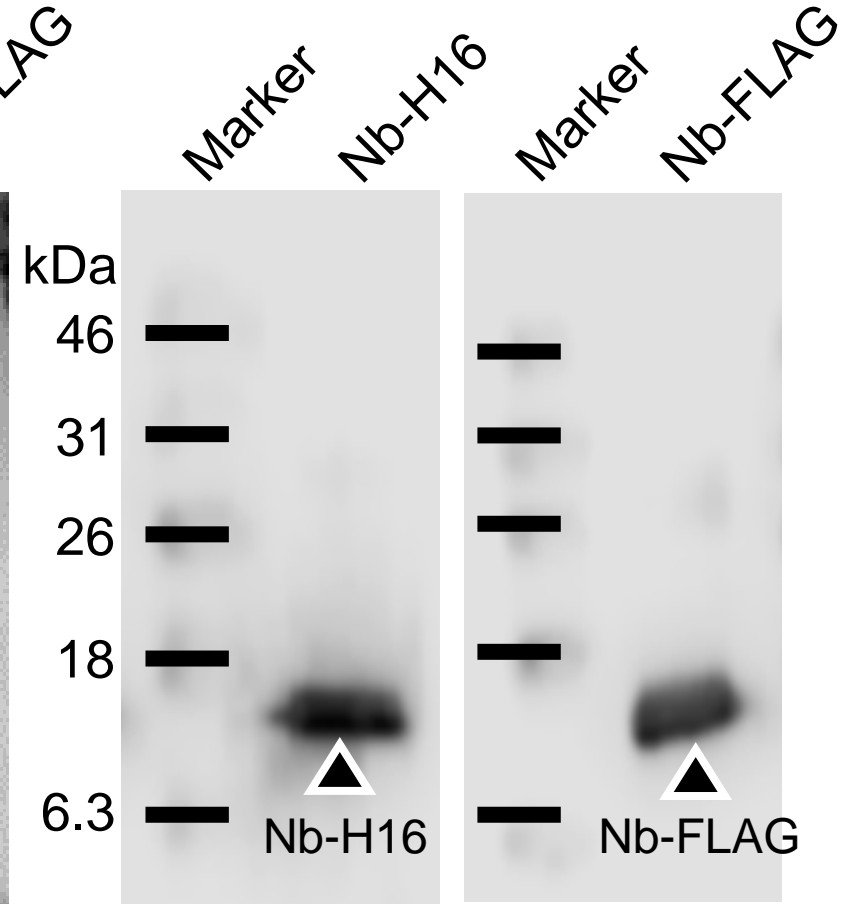
```

1  MQVQLQESGGGSVQAGGSLKLTCAASGYIFNSCGMGWYRQSPGRERELVS
51  RISGDGDTWHKESVKGRFTISQDNVKKTLYLQMNLSLKPEDTAVYFCAVCY
101 NLETYWGQGTQVTVSSGGGDKDDDDK
  
```

## CBB染色



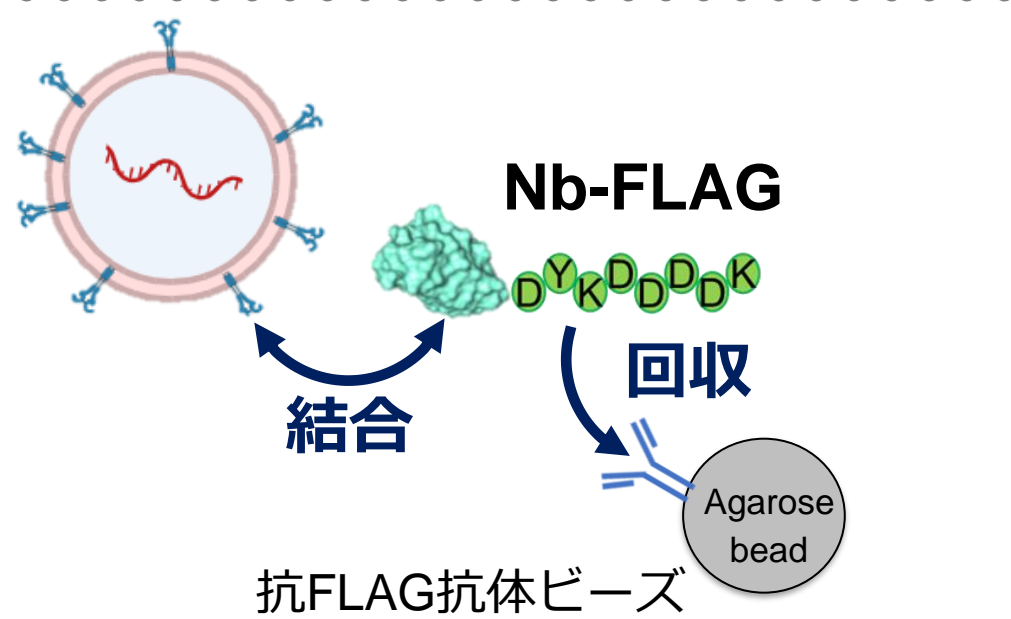
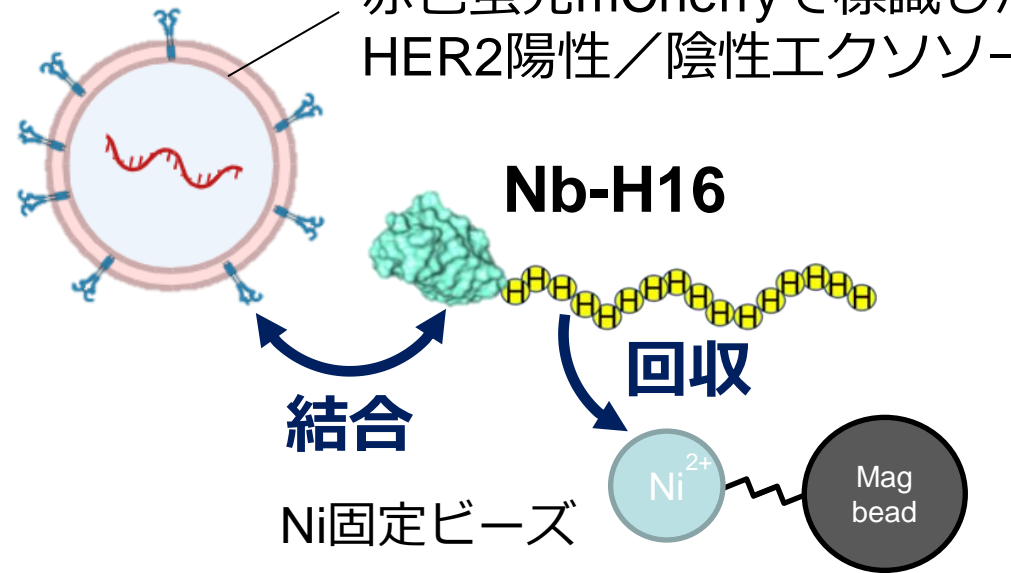
## ウェスタンブロッティング



**安価な大腸菌発現系にてNb-H16/FLAGの調製を確認**

# エクソソームとNb-H16/FLAGの結合

赤色蛍光mCherryで標識した  
HER2陽性/陰性エクソソーム



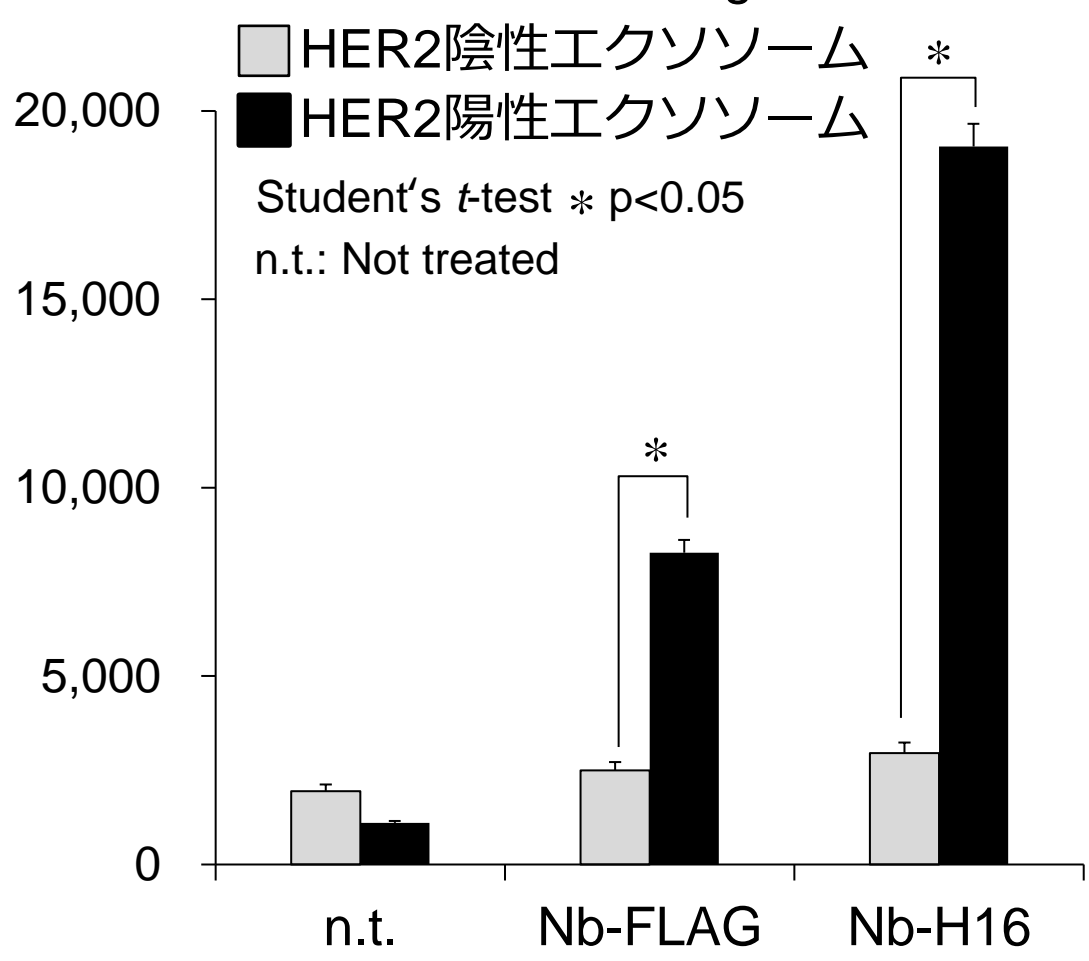
Nbに結合したエクソソーム量(蛍光強度)

## エクソソーム-Nb結合アッセイ

Protein conc. : 0.3 mg/mL

- HER2陰性エクソソーム
- HER2陽性エクソソーム

Student's *t*-test \* *p*<0.05  
n.t.: Not treated

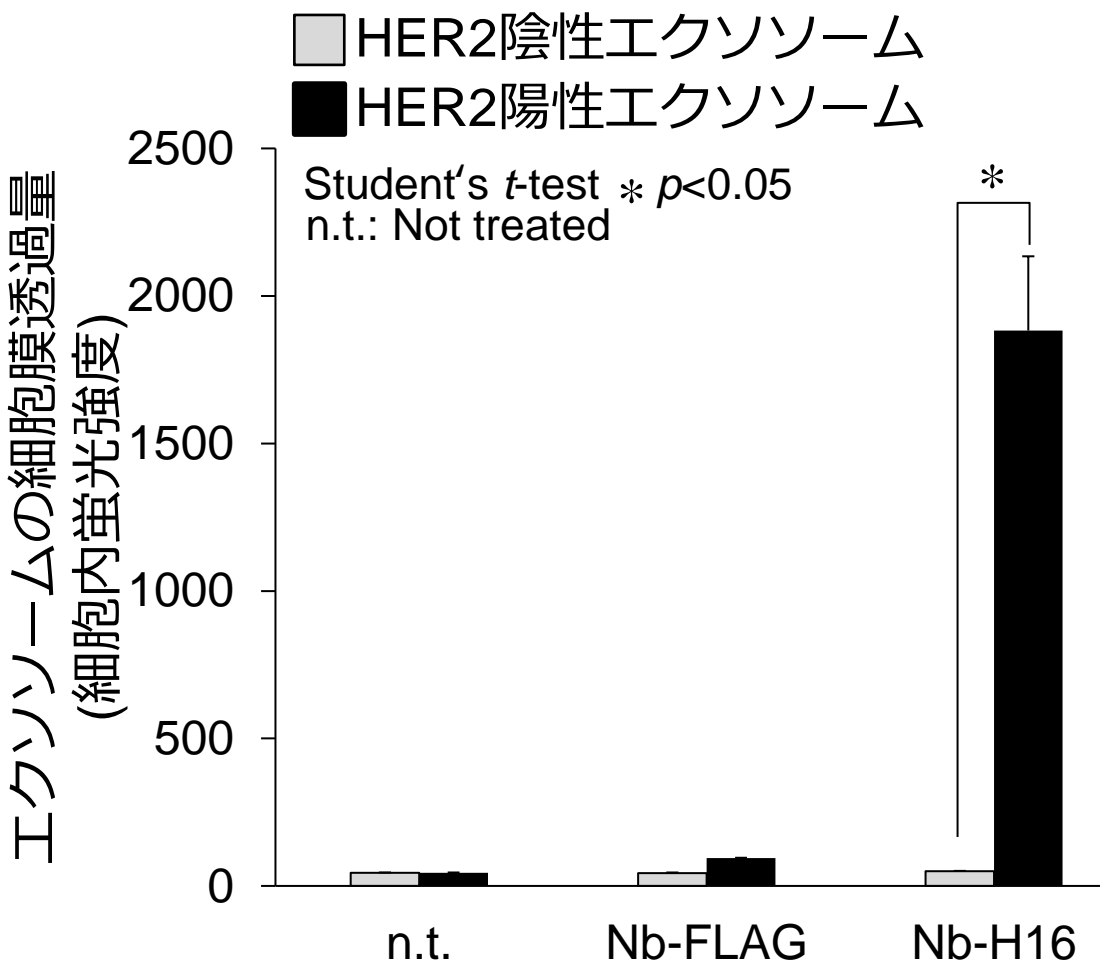


## HER2陽性エクソソームとNb-H16/FLAGの特異的な結合を確認

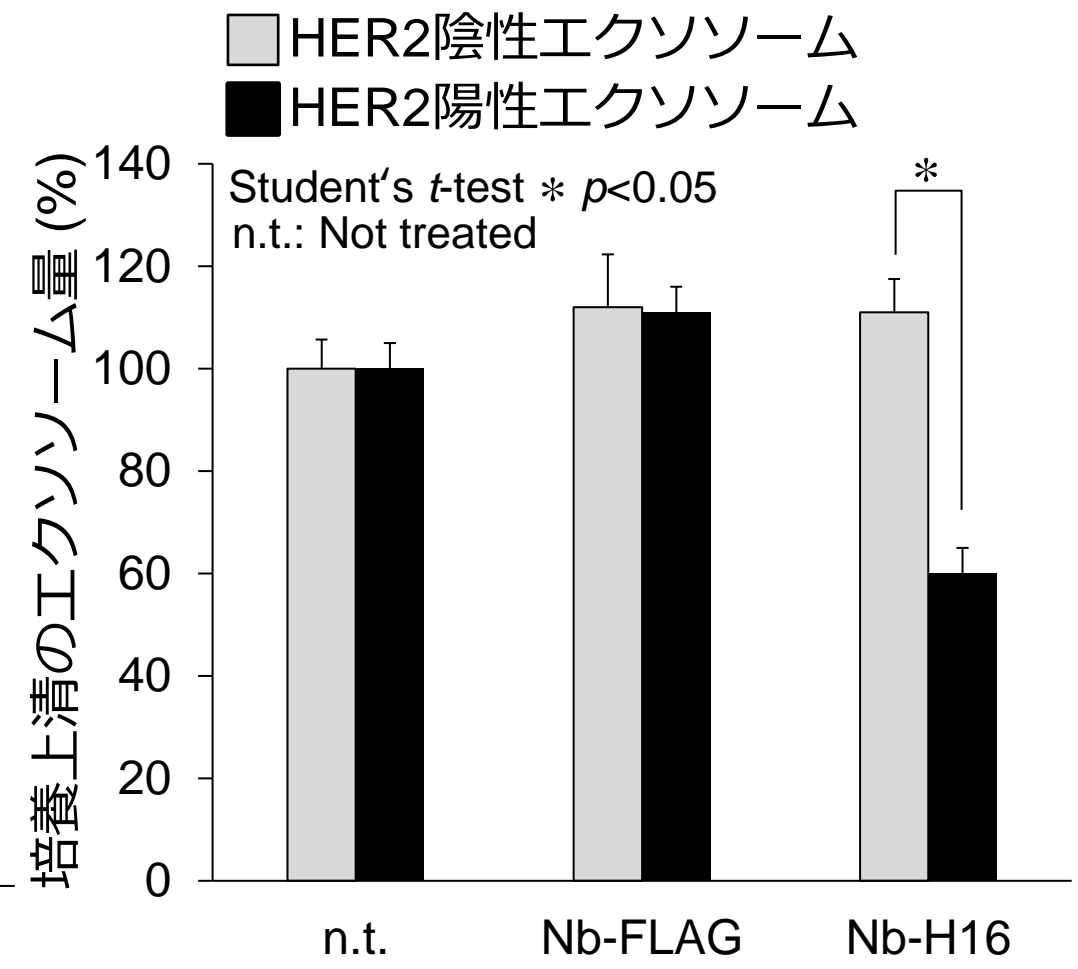
# Nb-H16のエクソソーム除去効果

SKBR3培養細胞 (HER2陽性ヒト乳がん細胞) を使用

エクソソームの細胞膜透過



培養上清からのエクソソーム除去

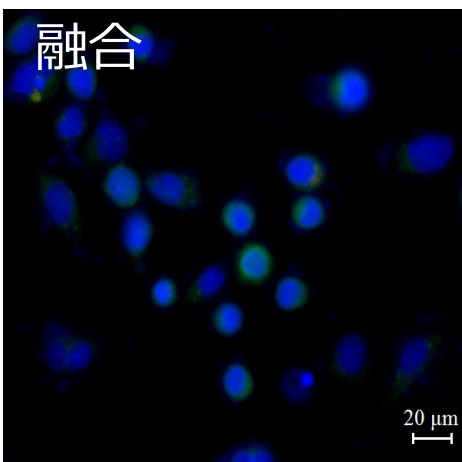
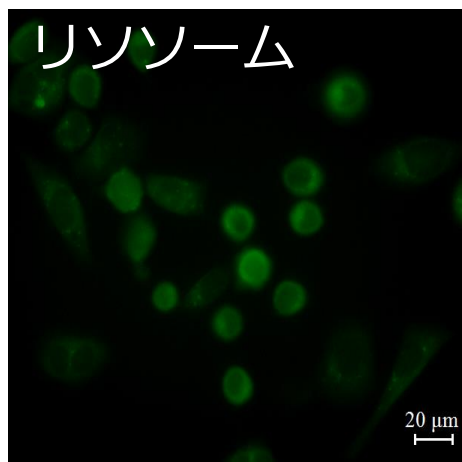
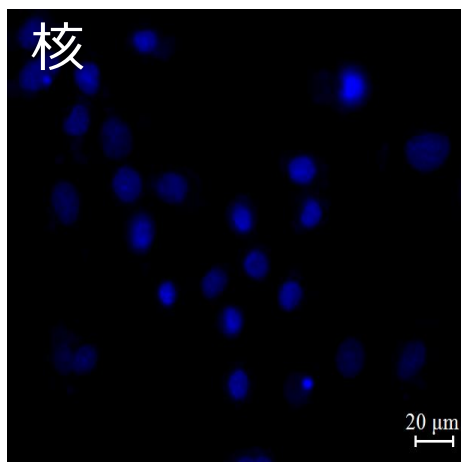


**Nb-H16はHER2陽性エクソソームを細胞内へ輸送することで、培養上清のHER2陽性エクソソームを除去する**

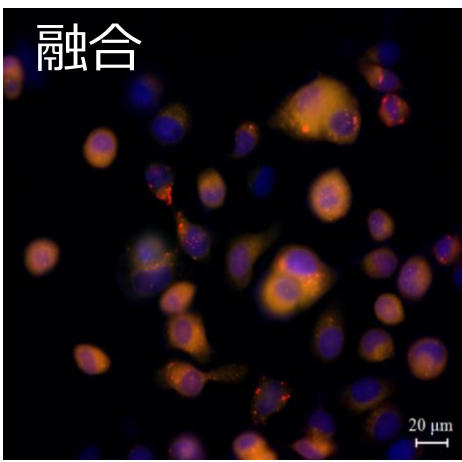
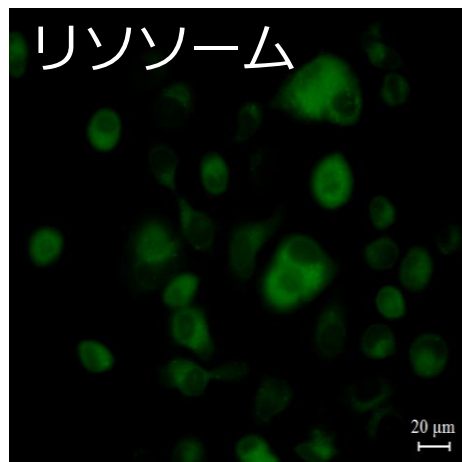
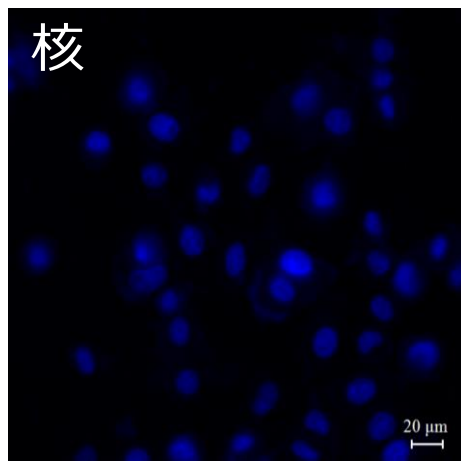
# Nb-H16によるエクソソームのリソソーム輸送

SKBR3培養細胞 (HER2陽性ヒト乳がん細胞) を使用

HER2陰性  
エクソソーム  
+ Nb-H16



HER2陽性  
エクソソーム  
+ Nb-H16



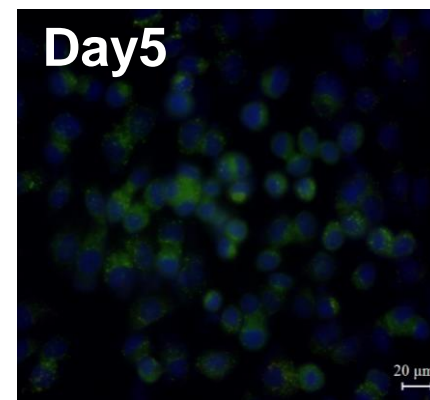
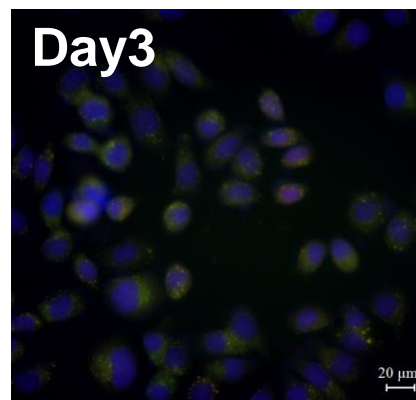
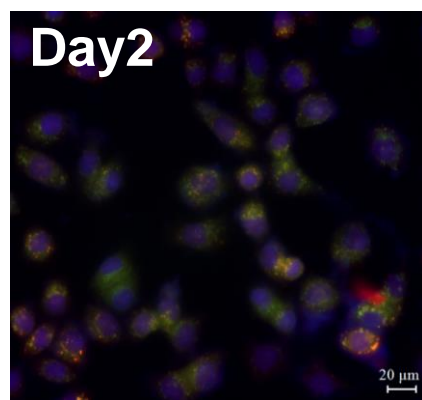
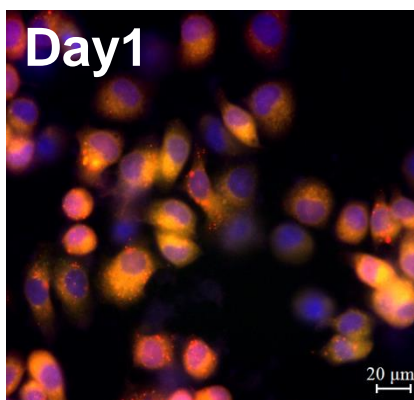
青蛍光：核 緑蛍光：リソソーム 赤蛍光：HER2陽性エクソソーム

## Nb-H16はHER2陽性エクソソームを細胞内リソソームに輸送する

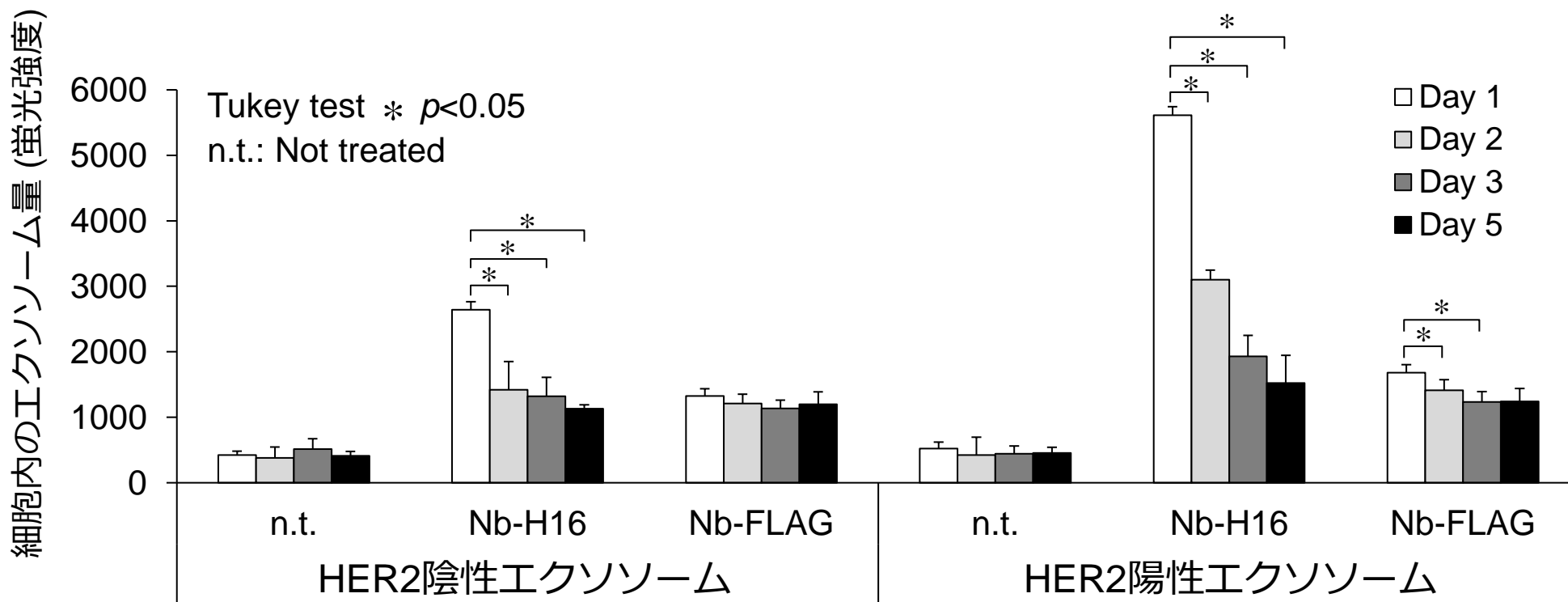
# Nb-H16によるエクソソームのリソソーム分解

SKBR3培養細胞 (HER2陽性ヒト乳がん細胞) を使用

HER2陽性  
エクソソーム  
+ Nb-H16



青蛍光：核 緑蛍光：リソソーム 赤蛍光：HER2陽性エクソソーム

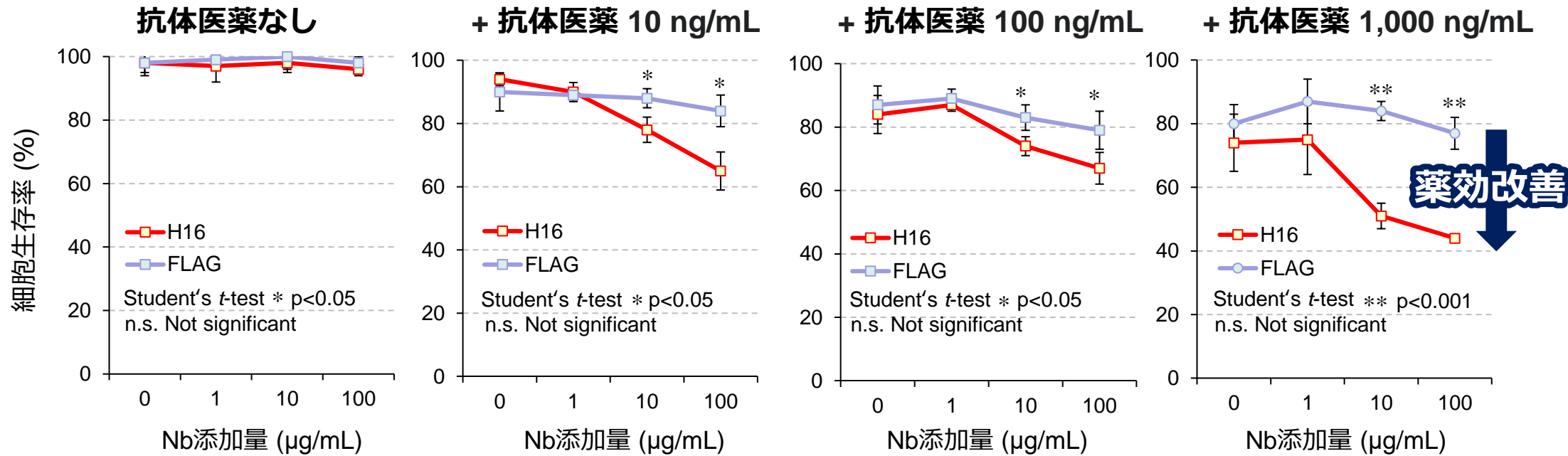
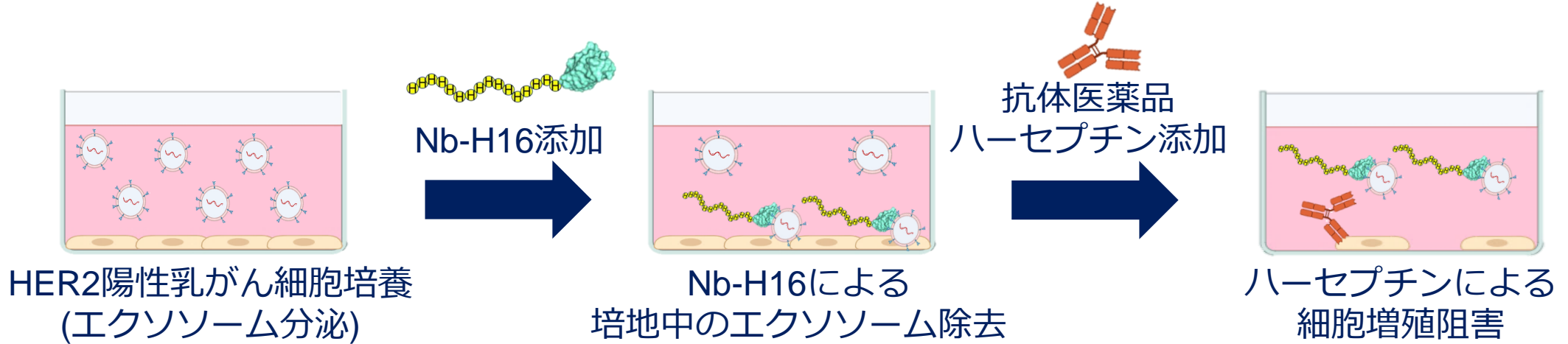


**Nb-H16はHER2陽性エクソソームのリソソーム分解を誘導する**



# Nb-H16による抗体医薬の薬効改善

SKBR3培養細胞 (HER2陽性ヒト乳がん細胞) を使用



**製造コストの低いNb-H16は、製造コストの高い抗体医薬の薬効を改善 (補助) する**

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点①であった、**エクソソームによる抗体医薬の薬効阻害**を改善することに成功した。
- 従来技術の問題点②であった、**人工透析（血液透析）装置**を使わない技術の開発に成功した。
- 本技術の適用により、**①抗体医薬の使用量の軽減（医療コストの削減）**や、**②患者QOLの改善**が期待される。

# 想定される用途

- ① 本技術は、抗体医薬の投与前に使用することで、**抗体医薬の促進剤・補助剤**として使用できると考えられる。
- ② 疾患に関連するエクソソームを除去することで、**疾患の治療・予防効果**が得られることも期待される。
- ③ エクソソームに限定せず、**細胞外の標的タンパク質などの選択的分解・除去技術**に展開することも可能である。

## 自力解決

# 実用化に向けた課題

- ① 今後は適用範囲を拡大するために、HER2陽性エクソソーム・抗体医薬ハーセプチン以外の**他の標的エクソソーム・抗体医薬についても有効性を実証する**必要がある。
- ② 現在、*in vitro*試験についてエクソソーム除去を実証済み。今後は***in vivo*試験においても有効性を実証する**必要がある。

## 企業共同研究にて解決

# 企業への期待

- ① *in vivo*試験における有効性を実証するために、マウス試験などの***in vivo*試験技術を持つ企業との共同研究を希望。**
- ② 組換えタンパク質の**製剤化の技術を持つ企業との共同研究を希望。**
- ③ **がん治療分野やタンパク質分解誘導試薬の開発**への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 新規細胞膜透過ペプチド
- 登録番号 : 特許第6202707号
- 出願人 : 国立大学法人鳥取大学
- 発明者 : 岩崎 崇、徳田佳久、  
小竹彩香、河野 強

# お問い合わせ先

国立大学法人鳥取大学  
研究推進機構 研究戦略本部

T E L 0857 - 31 - 5546

F A X 0857 - 31 - 5571

e-mail [sangakucd@ml.cjrd.tottori-u.ac.jp](mailto:sangakucd@ml.cjrd.tottori-u.ac.jp)