

免疫機能による疾患発症機構の解明とエクソソーム研究へのアプローチ

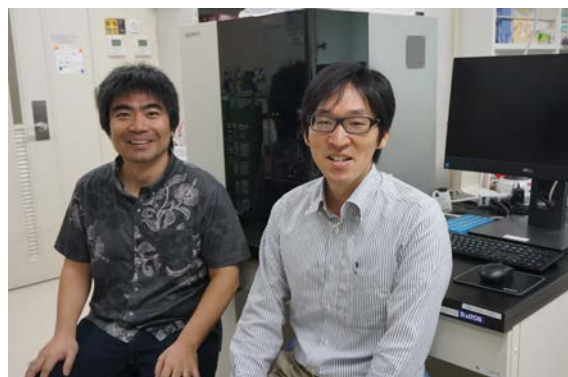
金沢大学
 医学系 免疫学 WPIナノ生命科学研究所
 先進予防医学研究センター
 平安 恒幸 特任准教授
 吉田 孟史 特任助教

使用機種

スペクトル型セルアナライザーSA3800

主な用途

免疫レセプターのリガンドのスクリーニング
 細胞外小胞のマーカー検出



左から平安先生、吉田先生

今回は、金沢大学の華山力成教授の研究室で、免疫機能による疾患発症機構を解明するために精力的にご研究をされている平安恒幸特任准教授と吉田孟史特任助教に、お話を伺いました。

スペクトル型セルアナライザーSA3800導入インタビュー



金沢大学 医学系 免疫学
 WPIナノ生命科学研究所
 華山 力成 教授

前モデルであるEC800から使用していて、着実に進化していていいですね。プリズムアレイ方式のスペクトルプロットは、EVの一粒解析の理解に大変役立っており、プレートを使用した自動オートサンプラーも研究を加速するためのツールとして大変役に立っています。

—平安先生が目指されている研究のゴールはどういうものでしょうか？

“Precision Medicine”という言葉にもありますが、ひとりひとりの個人差や性質をしっかりと説明ができて、個人個人の多様性に合致した医療の展開に貢献していきたいと考えながら研究に励んでいます。

具体的に現在は、ヒトの免疫レセプターの機能の解明に取り組んでいます。免疫レセプターにも色々な種類があるのですが、種で大きく異なっていたり、同じ種においても個体差があるような免疫レセプターが存在します。私はその一種であるLILRやKIR遺伝子ファミリーに注目して研究をしています。ヒトではLILRは11種類、KIRは17種類の免疫レセプター存在していて、これらの遺伝子が欠失していたり、遺伝子の数などが異なっていたり、ヒトの中でも個体差を反映していると考えられています。これらは、欠失していても、ヒトの健康上において一見問題がないように考えられているのですが、その

レセプターに対するリガンドが明らかになっていないため、レセプターそれぞれの機能が十分に解明されておりません。そこで、レセプターの機能を明らかにするために、まずはこれらのリガンドが何であるかを明らかにするための、研究に取り組んでいます。

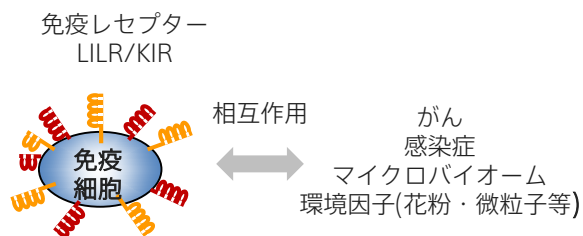


図1. 免疫レセプターがもたらす相互作用

—未知のリガンドを探してくるとは大変な作業のように思えますが…

そうですね。具体的には、それぞれのレセプターのタンパク質を作り、そのタンパク質が結合するような腫瘍細胞や病原微生物を探すというところから始めています。それが見つかれば、その細胞にリガンドが発現しているということが分かるわけです。このように、たくさんある候補細胞の中から標的細胞をスクリーニングするために、スペクトル型セルアナライザーSA3800を使用しています。

この一連の流れで、特に大変な作業は、標的のほとんどがネガティブデータですので、何十種類もの腫瘍細胞や病原微生物を準備するところですね。例えば、候補細胞が30種類あったとして、レセプターの種類も約30種類あるので、単純に900もの反応の中からポジティブなデータがあるかどうか探してくるのです。

—そのスクリーニングにスペクトル型セルアナライザーSA3800をご使用されているとお伺いしましたが、使い勝手などいかがですか？

はい、多い時で、週に3,4回スペクトル型セルアナライザーSA3800を使用しています。これまで色々なフローサイトメーターを使用してきましたが、オートサンプラーの使いやすさが特に気に入っている点です。大量に検体を測定しないといけない中で、定期的な攪拌がしっかりとできていて、定量性のあるデータが効率的に得られるところがいいですね。

—先生の将来の展望をお聞かせください。

疾患の原因となるリガンドが明らかになったら、治療につながる創薬のターゲットになると思っています。実際に、現在注目しているレセプターの中には、PD-1のような免疫抑制化レセプターがあります。ですので、リガンドが解明できれば、その免疫抑制の機能をブロックするような薬剤候補としてもなりえるのではと思っています。

そうすることで、免疫機能をより活性化させ、人々の健康に貢献できるのではと思っています

—有難うございました。



—続いて、吉田先生の研究の内容をお聞かせ頂けますでしょうか？

エクソソームを含む細胞外小胞がもたらす疾患への作用機序や免疫機能への作用機序など幅広く行っています。

エクソソームは現在では幅広い分野で注目されていますが、効率よく回収することや、どれだけ高感度に解析するかという研究の基礎となる技術が固まっていない状態だったので、まずはその基盤となるような技術を確認させるというところから力を入れています。

—それでホスファチジルセリンのエクソソーム回収キットが開発されたのですか？

はい、超遠心法やアフィニティ法などエクソソームを濃縮する方法はたくさんありますが、各技術において、どれだけピュアにインタクトな状態で濃縮できるかという点で技術革新する方向に進んでいる気がしています。

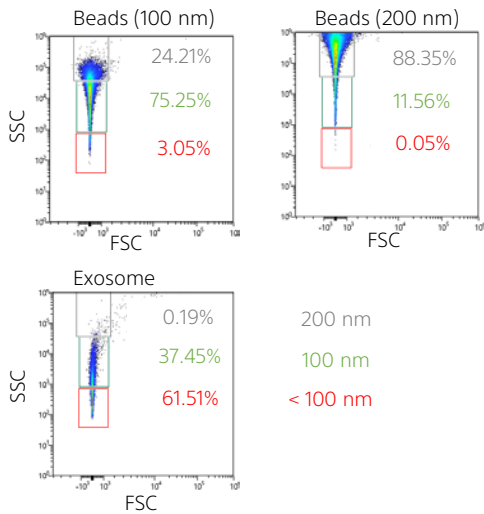
現在はその次の段階として、エクソソームがどのような機序で作られているのかというようなCell Biologyの分野の研究に注力しています。そうすることで、それぞれのエクソソームがこういった疾患に関与しているかなども明らかにできるのではないかと期待しています。



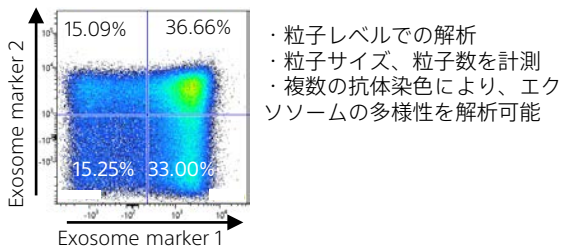
一純度が高くインタクトに濃縮するというのは、
投与を見据えてのことでしょうか？

勿論投与もあると思うのですが、研究現場にお
いても、仮に純度が低い状態、具体的には血中
のアルブミンなどのタンパクの複合体などが混
入した状態で細胞に添加すると、それが、もた
らす相互作用として何が起因していたのかとい
うことが曖昧になってしまうという懸念がある
ためです。そうした不純物が細胞に対して悪い
影響も与えかねない、そう考えています。そう
した不要な成分を如何に排除して純度の高い状
態にできるかが、結果的にエクソソームの性能
評価をクリアにすることに繋がります。

粒子サイズの計測



2種類の抗体染色による解析



- ・ 粒子レベルでの解析
- ・ 粒子サイズ、粒子数を計測
- ・ 複数の抗体染色により、エクソソームの多様性を解析可能

図2. エクソソームの一粒子解析例

一エクソソーム研究を始めようと思ったきっかけはありますか？

元々ウイルスの研究をしていたのですが、その背景から、免疫応答についてより詳しく学んでみたい、と思い、華山先生に出会いました。当時はエクソソーム研究はまだあまり進んではなかったのですが、ウイルスと類似したサイズ感であることや、新しいことへ取り組む期待で研究に着手するに至りました。

一ところで、フローサイトメーターはどのような研究でお使いですか？

私はエクソソームの疾患マーカー解析を目的としてスペクトル型セルアナライザーSA3800をメインに研究しています。エクソソームはサイズが大変小さいので、抗体や色素の組み合わせには工夫する必要がありますが、一粒子レベルで解析できていると思っています。

チームメンバーとしては、セルソーターを使っているメンバーもいます。

様々な遺伝子をKnockoutさせた細胞ライブラリーを作製後、それをシングルセルにセルソーターSH800Sで播種し、そこから得られる培養上清からエクソソームの量を定量したりしています。

そうすることでエクソソーム放出に寄与する遺伝子を特定し、エクソソーム放出メカニズムの解明やエクソソーム関連疾患の解析を目指しています。

一どうもありがとうございました

参考文献

1. Hirayasu K. *et al.*, *Nat Microbiol.*, 2016; 1(6): 16054
2. Saito F., Hirayasu K. *et al.*, *Nature*, 2017; 552(7683):101-105
3. Nakai W., Yoshida T., *et al.*, *Sci Rep.*, 2016; 6: 33935

スペクトル型セルアナライザーSA3800

多数のサンプルを高速・簡便に解析できる全自動スペクトル型セルアナライザー

- ・ 先進のスペクトル光学技術による高精度かつ安定した解析
- ・ 機器管理から解析までの快適なワークフローを実現
- ・ 日々の実験をより効率的にする384対応3Dオートローダーとシンプルで直感的な操作/設定



セルソーターSH800S

簡単セットアップ・小型化を実現した“日本発”セルソーター

- ・ 96/384シングルセルソート(SPモデル/384はオプション)
- ・ 目的に応じてオリフィスサイズを選択できるディスプレイソーティングチップ
- ・ 直感に訴えるユーザーフレンドリーなソフトウェア



発行元

ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ(株)

ライフサイエンス営業部

〒243-0014 神奈川県厚木市旭町 4-14-1

Tel: 0120-667-010

Fax: 0120-388-060

E-mail: cytometry@sony.com

URL: <http://www.sony.co.jp/LS>

