

平成 21 年 5 月 26 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：平成 18～21 年度

課題番号：18390032

研究課題名 (和文) エキソソームの形成機構と機能に関する研究

研究課題名 (英文) Studies on production and functions of exosomes

研究代表者

西島 正弘 (NISHIJIMA MASAHIRO)

国立医薬品食品衛生研究所 所長

研究者番号：60072956

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：生物系薬学

キーワード：エキソソーム

1. 研究計画の概要

エキソソームは細胞から分泌される多層膜の小胞で、その成分は細胞の生育状態、生育環境、そして細胞が貪食する物質により変化すると考えられる。本研究では細胞内寄生細菌が感染している細胞、あるいは細菌自身が分泌するエキソソームの成分を調べ、エキソソームの細菌感染における機能、特に生体防御における機能解析を行う

2. 研究の進捗状況

細胞内寄生細菌であるネズミチフス菌 (*S. enterica* serovar Typhimurium) は腹腔マクロファージなどの貪食細胞や腸管上皮細胞など非貪食細胞で細胞内増殖を行う。この細胞内増殖能はネズミチフス菌の病原性と密接にかかわっている。この細胞内増殖の際に外膜に由来するリポ多糖やペリプラズムに存在するペプチドグリカンなどの免疫系を賦活する働きのある物質が細胞内で部分的に消化されて、そのあとでエキソソームに輸送される可能性を考えている。そこで、これらエキソソームに含まれる可能性のある消化断片の構造解析を行うことを目指して、まず、エキソソームに取り込まれていることが推測されるリポ多糖の構造を質量分析計で測定する方法を確立した。とくにアミノアラビノース修飾型のリピド A 検出がこれまでの測定法では感度が悪く検出に難点があったが、この問題は精製法と検出に用いるマトリクスを変更することにより解決した。次にサルモネラ菌の細胞内寄生・増殖系の確立を行った。マウスマクロファージ由来の RAW 細胞と非貪食細胞であるヒト HEK293 細胞にサルモネラ

を感染させて増殖させる系の確立を行った。さらに様々なサルモネラ LPS リピド A 部位修飾変異株を感染・増殖させることもできた。さらに、サルモネラや緑膿菌などのグラム細菌が分泌するエキソソーム様小胞 (membrane vesicle) を培地から超遠心により分離精製することを行っている。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

培養細胞に様々な細菌を感染させて細胞内細菌増殖を行う系を確立することは達成された。エキソソームの分析が課題として残されている。

4. 今後の研究の推進方策

マウスマクロファージ由来の RAW 細胞培養系を増やして、細菌を感染させた細胞からエキソソームを分離して、エキソソーム内の細菌成分の分析を行う。また、細菌自身が産生するエキソソーム様の構造物についても解析を進める

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

1) K. Okemoto, K. Hanada, M. Nishijima and K. Kawasaki The preparation of a lipidic endotoxin affects its biological activities. *Biol. Pharm. Bull.* (2008) vol.31 1952-1954

査読有

2) K. Kawasaki, K. China, and M. Nishijima. Release of lipopolysaccharide deacylase PagL from latency compensates for a lack of lipopolysaccharide aminoarabinose modification-dependent resistance to antimicrobial peptide polymyxin B in *Salmonella enterica*. **J. Bacteriol.** (2007) vol. 189, 4911-4919 査読有

M. Kobayashi, S. Saitoh, N. Tanimura, K. Takahashi,
3) K. Kawasaki, M. Nishijima, Y. Fujimoto, K. Fukase, S. Akashi-Takamura, and K. Miyake. Regulatory roles for MD-2 and TLR4 in ligand-induced receptor clustering. **J. Immunol.** (2006) vol. 176, 6211-6218 査読有

4) 川崎清史, サルモネラ菌の外膜リモデリングと宿主応答 薬学雑誌 Vol. 126 1227-1234 (2006)

〔学会発表〕(計 2件)

1) 川崎清史、西島正弘 サルモネラ菌の抗菌ペプチド感受性のLPS脱アシル化による調節 第13回日本エンドトキシン研究会 2007年10月 鹿児島

〔図書〕(計 0件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

なし

○取得状況(計 0件)

なし

〔その他〕

なし