二国間交流事業 共同研究報告書

令和6年4月15日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
国立大学法人 東京大学 大学院医学系研究科
[職・氏名] 助教・サントス ヘルベルト

[課題番号]
JPJSBP 120223203

1. 事業名 相手国: フランス (振興会対応機関: MEAE-MESRI) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) ヒト大腸チップを用いた細胞外小胞による宿主-寄生虫相互作用の解明

(英文) Analysis of the role of Entamoeba histolytica extracellular vesicles in host-parasite interaction using human colon-on-chip.

3. 共同研究実施期間 2022年4月1日 ~ 2024年3月31日 (2年0ヶ月)【延長前】 年 月 日 ~ 年 月 日 (年 ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Institut Pasteur, Bioimage Analysis Unit, Senior Researcher, Elisabeth Labruyere

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		1,950,000 円
内訳	1年度目執行経費	950,000 円
	2年度目執行経費	1,000,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	3名
相手国側参加者等	3名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	1		2(0)
2年度目	1		2(0)
3年度目			()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

細胞は細菌から高等真核生物に至るまで、細胞外小胞(EVs)を放出し、細胞間のコミュニケーションに利用しています。EVsには主に microvesicles(直径 100-1000 nm)と exosomes(30-150 nm)が含まれ、これらは核酸、脂質、タンパク質を効率的に細胞間で伝播する役割を果たしています。高等真核生物では、EVsは免疫修飾、癌の転移、抗生物質耐性の付与などに関与しています。特に、ceramidesはオリゴデンドログリオーマのアポトーシスやマクロファージの移動に重要であることが知られています。感染症においては、細菌、真菌、寄生虫、宿主の両者がEVsを放出し、感染の強化や制御に関与していると報告されています。しかしながら、アメーバ症におけるEVsの存在とその生理的意義はまだ明確ではありません。本研究では、ヒトの大腸を再現する organ-on-a-chip を使用して、赤痢アメーバとヒト上皮との相互作用、特にEVsがヒト大腸上皮に及ぼす影響を解析しました。我々はEVsの精製方法を確立し、構成タンパク質も同定しています。さらに、フランスの研究者は colon-on-a-chip と画像解析システムのプラットフォームを確立しています。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

1. 赤痢アメーバ症の親株と肝臓移行株からのエクソソームの比較プロテオミクスにより、病原関連タンパク質、システインプロテアーゼ(CPs)、及びその受容体 CPBF1 と CPBF8 がシステインプロテアーゼ結合タンパク質ファミリーから同定されました。さらに、Leishmaniaの毒性に関与する既知のエクソソームタンパク質である細胞表面プロテアーゼ gp63も同定されました。2. CPBFは sortilin に似たヒドロラーゼ受容体として機能し、リソソームへのターゲティングを助けます。HA タグ付きの CPBF1 と CPBF8 は、エクソソーム分画で検出され、ブルーナティブ PAGE 解析に基づき、CPBF1は哺乳動物のエクソソームの sortilin に類似した二量体を形成する可能性があります。colon-on-chip プラットフォームの 3D クリプトを用いた初期機能アッセイでは、CPBF1を過剰発現する細胞から分泌されたEVsが共培養時には大腸上皮組織の透過上皮電気抵抗(TEER)に有意な影響を与えなかったと示されました。しかし、CPBF1を過剰発現する細胞からのEVsと模倣コントロールとの共培養での酵素連結免疫吸収試験(ELISA)データでは、単球化学誘引蛋白1(MCP-1)を含むいくつかの前炎症サイトカインの分泌がわずかに増加したことが示唆されました。この結果は、CPBF1を過剰発現する細胞からのEVsの相互作用または取り込みによる上皮細胞による前炎症応答の増強を示しています。CPBF1のエクソソームにおける E. histolytica の病原性との関連性をさらに調査するための条件が最適化されています。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

私たちの共通の目的は、アメーバ症の病原体である赤痢アメーバが腸のバリアへの侵入機構中に分泌する細胞外小胞(EVs)の組成と役割を解明することです。フランスの協力者が以前に開発したアメーバ症研究用の colon-on-chip 大腸モデル(これは大腸の 3D 構造と蠕動運動を模倣しています)は、CPs 阻害剤の存在下で蛍光標識された野生型寄生虫に感染させ、上皮の破壊を抑制し、EVs をよりよく可視化するために使用されました。私たちは、アメーバ EV 相互作用の 3D 結腸チップモデルをテストするための探索的研究と一連の実験を完了しました。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

初期の調査結果を集約したところ、私たちの短期間の共同研究からは直接的な社会貢献を導き出すことは難しいです。しかしながら、私たちの colon-on-a-chip モデルを使用してアメーバ症におけるEVsの毒性機構を明らかにすると、この共同研究はアメーバ症の治療方法の改善に寄与する可能性が高まります。この研究を通じて、新たな治療戦略や診断方法の開発に貢献することが期待され、アメーバ症の予防と治療における現状の課題を克服するための重要な一歩となるでしょう。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

日本側: 博士課程学生の Ruofan PENG は、日本の研究室でこのプロジェクトに関する論文を執筆中です。2022年9月にパスツールを短期間訪問した彼は、博士号の研究を発表し、ICYプラットフォームの使用方法を学び、パスツールの専門家とプロジェクトの現在および将来の展望について話し合うことができました。私たちの研究室の他の大学院生も、2022年11月のフランスチームの訪問から恩恵を受け、研究テーマを共有し、研究でICYプラットフォームをどのように活用できるかについてフランスチームと話し合うことができました。

フランス側: フランスの研究室の数学論文学生である Yekta KESENCI は、日本のグループの画像の一部を定量化するアルゴリズムの開発に貢献しました。フランスの研究室の生物学論文学生、Thomas TREPORT 氏は、2023年11月に日本のチームを訪問した際に、現在の研究内容を共有した。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

私たちは、アメーバ症の治療薬やワクチンの新しい運搬手段としてアメーバ症のエクソソームを適用することを期待しています。使用している3D colon on chipプラットフォームにより、in vivoを模倣したシステムで新しい予防策や治療法を評価することができます。また、EVsの役割をE. histolyticaの病原性における理解を深めるとともに、Entamoebaの病原性機構を研究するためのin vitroモデルの開発、感染の異なる時点での宿主と寄生虫のトランスクリプトームプロファイルを提供し解釈することで、共培養中の新しい病原性(E. histolytica)および防御(宿主細胞)の機構を明らかにすることを期待しています。さらに、E. histolyticaにおけるエクソソームの生成経路と、宿主細胞によるエクソソームの取り込み機構を明らかにすることを目指しています。この将来的な研究は、組織特異的な免疫応答の解明、抗原の発見、新しい薬物運搬システムの開発に貢献するでしょう。colon-on-chipプラットフォームは、新しい薬物やワクチンを対象とした臨床試験や人間チャレンジ研究の代替ツールとしても機能し、新しい介入方法の開発を助けます。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例: 大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

なし