

(経過報告書の様式)

2026 年 7 月 22 日

金沢大学産学連携協力会 御中

第 10 回 若手研究者奨励賞 研究経過レポート

所 属 金沢大学附属病院 脳神経内科
職 名 助教

ふりがな なかの ひろと
氏 名 中野 博人

1. 研究の概要

(1) 採択研究テーマ名

中枢神経由来エクソソームから抽出したアミロイド β 蛋白を用いたアルツハイマー病の診断バイオマーカーの開発

(2) 採択された研究の目的及び要旨

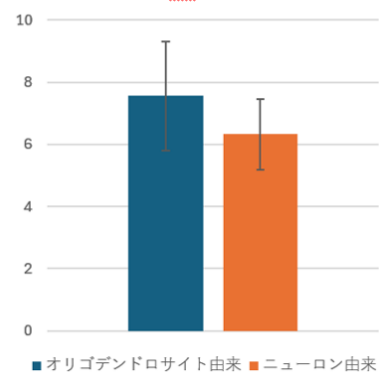
認知症は世界全体が抱える社会問題の1つであり、多くの方にとって身近な問題である。認知症の原因疾患の中で最多を占めるのがアルツハイマー病（AD）である。現在、ADの診断は脳脊髄液バイオマーカー及び脳血流 SPECT、アミロイド PET といった核医学検査が主流となっている。上記検査は特定の医療機関に偏在して配備・実施されているため、ADの診断精度は施設間で大きな隔たりがある。高いコストや侵襲性も問題になっている。申請者は、医療施設間で格差の生じない簡便な AD 診断バイオマーカー開発のため、血液を用いたリキッドバイオプシー技術に注目している。患者血清中に含まれる中枢神経細胞由来のエクソソームから AD の疾患病態に病初期から関連しているアミロイド β 蛋白（A β ）を抽出し、高毒性 A β 凝集体を同定することで AD の病態を反映した画期的な血液バイオマーカーが開発できる。本研究成果により、生体環境下での高毒性 A β 凝集体の凝集プロセスを再現・解析する *Ex vivo* 凝集モデルが開発され、AD の病態解明に加え、AD の新規治療薬の開発に発展することができる。

2. 研究の遂行

(1) 研究経過・成果

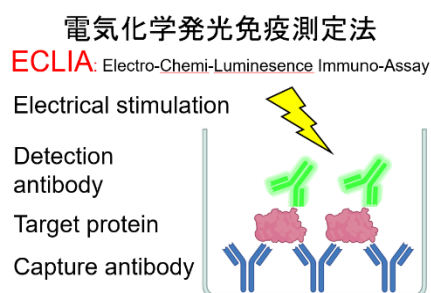
申請者は、まず市販のヒト血清を用いて中枢神経細胞由来エクソソームを抽出する手法を確立させ、その再現性を確認した。エクソソーム抽出には、ExoQuick™（SBI, Cat# EXOQ20A-1）による沈降法と Dynabeads™ Antibody Coupling kit（Thermo Fisher Scientific, Cat# 14311D）による免疫沈降法を組み合わせた手法を用いた。血清に ExoQuick™ 溶液を加え、全エクソソームを沈殿させた。次に抗体を吸着させた抗体修飾磁気ビーズを加え、沈殿したペレットに含まれる標的エクソソームを免疫学的に選択的捕捉した。免疫沈降法には、異なる中枢神経細胞由来のエクソソーム抽出のため、異なる抗体を用いた。ニューロン由来エクソソームの抽出には neuroigin 3 抗体（Santa Cruz Biotechnology, Cat# sc-137052）を、オリゴデンドロサイト由来エクソソームの抽出には MOG 抗体（Santa Cruz Biotechnology, Cat# sc-376138）を用いた。反復実験の結果、血清 200 μ L から各神経細胞由来エクソソーム内タンパク質

図1：各神経細胞から抽出したエクソソーム内総タンパク量（ μ g）



のエクソソーム抽出のため、異なる抗体を用いた。ニューロン由来エクソソームの抽出には neuroigin 3 抗体（Santa Cruz Biotechnology, Cat# sc-137052）を、オリゴデンドロサイト由来エクソソームの抽出には MOG 抗体（Santa Cruz Biotechnology, Cat# sc-376138）を用いた。反復実験の結果、血清 200 μ L から各神経細胞由来エクソソーム内タンパク質

を安定した再現性で抽出できることを明らかにした(図1)。抽出したサンプル中に含まれる各種疾患修飾タンパク質 ($A\beta$ 40, $A\beta$ 42, α -シヌクレイン、tau, GFAP, NfL) の濃度を Electro-Chemi-Luminescence Immuno-Assay (ECLIA) を用いて随時定量化している。また *Ex vivo* 凝集モデル開発の準備として SH-SY5Y 細胞を用いた培養系の立ち上げも進め、順調に進行している。



(2) 今後の研究進展及び方向性

今後は、実際の患者 (AD、異なる神経変性疾患としてパーキンソン病、健康被検者) 血清を用いて細胞種別の中枢神経細胞由来エクソソームを抽出し、内包される各種疾患修飾タンパク質 ($A\beta$ 40, $A\beta$ 42, α -シヌクレイン、tau, GFAP, NfL) を定量化する。測定値と背景疾患との相関を検討し、AD の診断バイオマーカーとしての有用性を検証する。またエクソソーム内の $A\beta$ 42 を用いたチオフラビン T 分析や *Ex vivo* 凝集モデルの開発も進めるが、エクソソーム内の $A\beta$ 42 を免疫沈降法で回収する場合、捕捉抗体を $A\beta$ 42 から完全に切り離す工程に課題を残している。バッファー条件や磁気ビーズの洗浄といった作業工程の調整を続けていく。

3. 発表論文一覧等

なし