

研究報告書

平成30年度：A課題

2020年 10月 15日

公益財団法人

がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 東京医科大学

住 所 東京都新宿区西新宿6-7-1

研究者氏名 吉岡祐亮



(研究課題)

がん悪性化におけるエクソソーム膜上の糖鎖機能の解明

平成31年 3月 1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【研究目的】

細胞外に分泌される小胞のエクソソームは、近年の研究によりその生物学的な重要性が認識されてきた。特にがん細胞由来のエクソソームは、がん細胞の微小環境や転移予定の臓器に作用し、がん細胞の生存・転移を促進している。そのため、エクソソームによるがん悪性化機構の理解は、がんの新たな診断・治療につながる。エクソソーム内には蛋白質や核酸が、エクソソーム膜上には膜蛋白質や糖鎖が存在し、がんの悪性化に応じて、これらの分子の種類も変化しエクソソームの機能に貢献することが知られている。エクソソーム膜上の糖鎖修飾も同様に变化するが、がん悪性化におけるがん細胞由来のエクソソーム膜上の糖鎖の機能は十分に理解されていない。本申請では、がんの悪性化におけるがん細胞由来のエクソソーム膜上の糖鎖機能の解明を目的とする。

【研究方法】

1：がん細胞の転移の性質の違いによる糖鎖修飾の変化の検証

申請者は、ヒト乳がん細胞株の低転移細胞株、リンパ節/肺への高転移細胞株、脳への高転移株と、同じ細胞が起源で転移能が違う細胞株を所持しており、それぞれのエクソソーム

の機能解析も完了している（小坂ら, JBC. 2013, 富永, 小坂ら, Nat Commun. 2015）。そこでこれらの違う機能をもつエクソソームにおける糖鎖修飾の違いをレクチンプロットで検証した。

2 : In vitro における血管内皮細胞への取り込みによる、がん細胞由来エクソソーム膜上の糖鎖機能の評価

上述したヒト乳がん細胞株の低転移細胞株、リンパ節/肺への高転移細胞株、脳への高転移株と、同じ細胞が起源で転移能が違う細胞株の細胞株の分泌するエクソソームは、血管内皮細胞に入りその機能を制御していることも報告している（小坂ら, JBC. 2013, 富永, 小坂ら, Nat Commun. 2015）。そこでこの知見をもとにして、血管内皮細胞にエクソソームを加える際に、糖鎖修飾があるものとならないもので、血管内皮細胞への取り込みにどのような変化を起こすかを評価した。

3 : In vivo 動物モデルを用いたがん転移モデルによるがん細胞由来エクソソーム膜上の糖鎖機能の評価

これまでの研究により、in vivo の動物モデルを用いたエクソソームの機能評価系を構築している（小坂ら, JBC. 2013, 富永, 小坂ら, Nat Commun. 2015）。そこで、これらの転移モデルを用いて、がん細胞由来の糖鎖を切断したエクソソームと糖鎖を切断していないエクソソームを動物モデルに投与し、そのエクソソームの全身投与によるエクソソームの体内動態の変化を評価した。

【結果】

転移能の異なる乳癌細胞株より回収したエクソソームは、その糖鎖修飾に違いがあることを明らかにした。また、乳癌細胞株より回収したエクソソームの糖鎖切断をしたところ、エクソソームの細胞への取り込みが促進されることがわかった。このエクソソームの取り込みの促進は、もとの細胞株の性質に関係なく、糖鎖を切断することにより、エクソソームの取り込みが促進された。さらに糖鎖の切断をしたエクソソームとしていないエクソソームでは体内動態が変化することも示された。

【考察】

上述の結果により、がん細胞の性質により変化するエクソソーム膜上の糖鎖は、エクソソームの受容細胞への取り込みに関わることが示唆された。一方、糖鎖切断を行うことにより、エクソソームの体内動態が変化することもわかった。以上の結果から、エクソソームにおける糖鎖は、その体内動態や細胞への取り込みに関わっていることがわかり、これらの現象を介してがんの悪性化に大きく貢献していると考えられる。

【本研究助成関連の査読付き論文】

Nishida-Aoki N, Tominaga N, Kosaka N, Ochiya T. Altered biodistribution of deglycosylated extracellular vesicles through enhanced cellular uptake. J Extracell Vesicles. 2020 Jan 13;9(1):1713527. doi: 10.1080/20013078.2020.1713527.

【本研究の代表的学会発表】

小坂 展慶 細胞外小胞エクソソームによるがん悪性化機構の解明とその治療戦略、第38回日本糖質学会年会、平成31年8月21日、名古屋