

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明
2. 研究開発課題名：炎症がん由来エクソソームにおける脂質の役割
3. 研究開発代表者：東海大学医学部内科学系血液・腫瘍内科学 教授 幸谷愛
4. 研究開発の成果：**エクソソーム内脂質による miRNA 機能増幅機構**の解明

EBV は成人の 90%が感染していますが、感染のパターンには表出するウィルスタンパクの数によって、主に 3 種類 (Type1, 2, 3) があります。Type3 細胞が最も多くのウィルスタンパクを表出し免疫細胞によって排除されます。Type1 細胞はウィルスタンパクの表出数が限定されており、免疫の監視を逸脱します。Type2 は Type1 と Type3 の中間の数のウィルスタンパクを表出します。これまでに、EBV タイプ 3 潜伏感染細胞由来エクソソームは活性化マーカーCD69 を発現上昇させ、マクロファージ活性が強く、EBV タイプ 1 潜伏感染細胞由来エクソソームは比較的弱いことを明らかにしています。

そこで、この両者のエクソソームについて脂質・蛋白・RNA 解析を試み包括的な差異を明らかにすることが本研究課題の一つの目的です。

27 年度は、適切なエクソソーム精製方法について検討しました。これまでの超遠心法がエクソソーム回収法の“ゴールドスタンダード”とされてきましたが、電子顕微鏡で観察すると多くの夾雑物が認められます。これでは、フリーの脂質も多く含まれると考えられるため、改良が必要です。

そこで、エクソソームに表出する脂質を標的とした精製方法を試みました。

エクソソームにはリン脂質フォスファジルセリン (PS) が表出しています。そこで、PS を標的にエクソソームを精製するキットを用いました。

その結果、精製されたエクソソームの精製度を測定するために、電子顕微鏡を用いた視覚的な観察を行ったところ、PS を用いた精製キットで精製したエクソソームは、超遠心法を用いた場合に比較して、著明に夾雑物が少ないことが判明しました。

また、更に夾雑物を減らすために、無血清培養を試みました。その結果、FGF, EGF を加えることによって、安定的に培養できる系を確立しました。