

「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明と
その制御に向けた基盤技術の創出」
平成 29 年度採択研究代表者

H29 年度 実績報告書

福田 光則

東北大学大学院生命科学研究科
教授

細胞外小胞の形成・分泌とその異質性を生み出す分子機構の解明
～人工細胞外小胞への展開

§ 1. 研究実施体制

(1)「福田」グループ

- ① 研究代表者:福田 光則 (東北大学大学院生命科学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・上皮細胞を用いた細胞外小胞の輸送・分泌の分子機構とその異質性を生み出す仕組みの解明:Rab 分子の網羅的機能解析

(2)「森田」グループ

- ① 主たる共同研究者:森田 英嗣 (弘前大学農学生命科学部 准教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞外小胞の形成を制御する ESCRT 因子の同定と細胞外小胞の異質性を生み出す分子機構の解明:人工細胞外小胞・粒子への応用

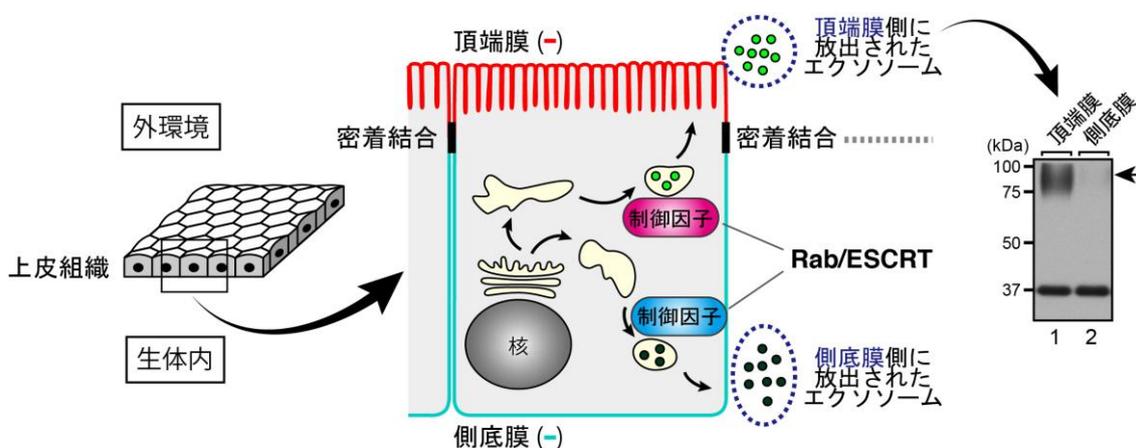
(3)「田中」グループ

- ① 主たる共同研究者:田中 伸幸 (宮城県立病院機構宮城県立がんセンター研究所
がん先進治療開発研究部 部長)
- ② 研究項目
 - ・ヘテロな細胞外小胞の機能的異質性の解析:人工細胞外小胞・粒子の機能評価系の構築

§ 2. 研究実施の概要

私達の体を構成する細胞は、蛋白質・脂質・核酸などの物質を包み込んだ小胞を細胞外に放出し、細胞同士のコミュニケーションを図っている。しかし、細胞外小胞による生体応答の詳細な仕組みはもちろん、内容物の異なる細胞外小胞がそもそも何種類存在するのか(異質性)といった基本的な問題すらも解明されていない。その最大の理由の一つとして、細胞外小胞がどこで生まれ(形成)、どこへ運ばれ(輸送)、どこから、どのようにして放出されるのか(分泌)といった基本的な仕組みそのものが未だ解明されていない点が挙げられる。従来の細胞外小胞に関する研究の多くは、放出された後の培養液中の小胞に焦点を当てていたため、上記の疑問に答えるのは容易ではなかった。そこで本研究では、密着結合と呼ばれる特殊な細胞間接着構造により物理的に隔てられた二種類の細胞膜(頂端膜と側底膜)を持つ上皮細胞をモデル系に用いて、異なる細胞膜から放出される組成の異なるエクソソーム(粒径 30-100 nm の細胞外小胞の一種)の形成・輸送・分泌の分子機構の違いを明らかにすることを目的としている(図1中央)。具体的には、小胞の形成・輸送の中心的制御因子である ESCRT 複合体と低分子量 G 蛋白質 Rab に焦点を当て、エクソソーム特異的な制御因子の同定とその機能解析を目指している。

本年度はまず、腎臓由来の上皮細胞株である MDCK 細胞を用いて、上皮組織のモデル系である平面培養系(モノレイヤー)および三次元培養系(シスト)を確立した。また、エクソソームの形成・輸送・分泌経路をイメージングするため、エクソソームのレポーター分子の発現系の構築も行い、頂端膜側に特異的にエクソソームとして放出されるマーカー分子の作製に成功した(図1右、矢印)。さらに、エクソソームの輸送・分泌の分子機構を解明するために必要な、全ての Rab のノックアウト細胞株の樹立を世界に先駆けて行い、一部のノックアウト細胞株の機能解析データの発表を行った。エクソソームの形成機構に関しては、内腔小胞の形成への関与が示唆されている ESCRT 複合体の全ての構成因子を対象にしたノックダウン(あるいはノックアウト)の系を立ち上げ、エクソソーム形成への影響を検討する準備を整えた。また、樹状細胞などに対するエクソソーム機能の評価に向けたエクソソームの可視化に取り組んだ。



Kuchitsu, Y., Homma, Y., Fujita, N. & Fukuda, M. (2018) Rab7 knockout unveils regulated autolysosome maturation induced by glutamine starvation. *J. Cell Sci.*, in press

Tabata, K., Nara, A., Omori, H. & Morita, E. (2018) Immuno-localization of ESCRT proteins in virus-infected cells by fluorescence and electron microscopy. *Methods Mol. Biol.*, in press