

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

2018 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

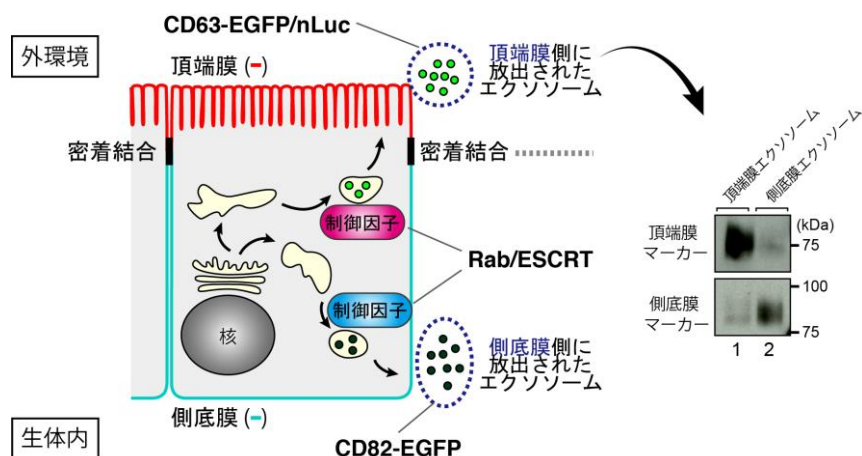
「細胞外小胞の形成・分泌とその異質性を生み出す分子機構の解明
～人工細胞外小胞への展開」

§ 1. 研究成果の概要

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そのものを細胞外に放出することにより、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空間的・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 100 nm 前後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左)。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、これらの制御因子のノックアウト細胞株あるいはノックダウン細胞を用いて、エクソソーム特異的な制御因子の同定とその機能解明に取り組んでいる。

これまでの研究で、腎臓由来の上皮細胞株である MDCK 細胞を用いて、上皮組織様の培養系(モノレイヤー及びシスト)を確立すると共に、頂端膜側、側底膜側に特異的に放出されるエクソソームのマーカー分子の同定(及びレポーター分子の作製)に成功している(図1右)。本年度は特に、エクソソームの輸送・分泌の分子機構を解明するため、全ての Rab をノックアウトした MDCK 細胞株の樹立を世界に先駆けて行い、これらのノックアウト細胞株の機能解析データについて論文発表を行った。尚、樹立した Rab ノックアウト細胞株は本 CREST 領域内だけでなく、公的リソース機関より近日中に公開予定である。また、開発したエクソソームのレポーター分子を用いた解析

により、一部の Rab ノックアウト細胞株で、エクソソームの極性分泌に異常が見られることも見出した。さらに、エクソソーム形成における ESCRT 複合体の関与を検討するため、siRNA を用いた網羅的なノックダウンスクリーニングを行い、エクソソームの元となる多胞体の内腔小胞形成に関与する複数の ESCRT サブユニットの同定にも成功した。引き続き、得られた候補 Rab や ESCRT 因子によるエクソソームの形成・輸送の分子機構について解析を進める予定である。



【代表的な原著論文】

1. Yoshihiko Kuchitsu and Mitsunori Fukuda, "Revisiting Rab7 functions in mammalian autophagy: Rab7 knockout studies" *Cells*, 7(11), 215, 2018
2. Kan Etoh and Mitsunori Fukuda, "Rab10 regulates tubular endosome formation through KIF13A and KIF13B motors" , *J. Cell Sci.*, 132(5), jcs226977, 2019

§ 2. 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