

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

2017年度採択研究代表者

2020年度 年次報告書

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

エクソソームは細胞内膜系に由来する粒径 100 nm 前後の細胞外小胞で、新たな細胞間コミュニケーションの手段として注目されている。近年、サイズや組成の異なるエクソソームの存在が報告されるようになってきたが、その『異質性 (heterogeneity)』を生み出す仕組みは未だ解明されていない。本研究では、密着結合により物理的に隔てられた二種類の異なる細胞膜 (頂端膜と側底膜) を持つ上皮細胞株 (MDCK 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の形成・輸送・分泌の分子機構の違いを解明することを目的としている。具体的には、小胞の形成・輸送の中心的制御因子である ESCRT 複合体やその関連因子、低分子量 G 蛋白質 Rab、及びセラミド代謝に焦点を当て、頂端膜・側底膜エクソソームに特異的な制御因子の同定とその機能解明を目指している。

本年度は、頂端膜と側底膜から放出されるエクソソームを別個に解析する手法を確立し、実際に、それらの蛋白質組成が異なる、すなわち、頂端膜エクソソームには GPRC5C や CD63 が豊富に含まれるのに対し、側底膜エクソソームには CD9 や CD81 が豊富に含まれていることを明らかにした。また、siRNA や阻害剤を用いて、それぞれのエクソソームに特異的な制御因子の解析を行い、頂端膜エクソソーム分泌には ALIX-Syntenin1-Syndecan1 複合体が、側底膜エクソソーム分泌にはスフィンゴミエリナーゼ (nSMase2) 依存的なセラミド代謝が独立に機能することを初めて突き止めた (EMBO Rep, 2021)。すなわち、上皮細胞においては、ALIX 依存的な内腔小胞の形成 (頂端膜エクソソーム) とスフィンゴミエリナーゼ/セラミド代謝依存的な内腔小胞の形成 (側底膜エクソソーム) が多胞体レベルで別個に制御されている可能性が強く示唆される。

§ 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

(2)「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

【代表的な原著論文情報】

- 1) Takahide Matsui, Futaba Osaki, Shu Hiragi, Yuriko Sakamaki and Mitsunori Fukuda, “ALIX and ceramide differentially control polarized small extracellular vesicle release from epithelial cells”, *EMBO Reports*, vol. 22, pp.e51475, 2021
- 2) Mai E. Oguchi, Koki Okuyama, Yuta Homma and Mitsunori Fukuda, “A comprehensive analysis of Rab GTPases reveals a role for Rab34 in serum starvation-induced primary ciliogenesis”, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 295, No. 36, pp.12674–12685, 2020
- 3) Futaba Osaki, Takahide Matsui, Shu Hiragi, Yuta Homma and Mitsunori Fukuda “RBD11, a bioengineered Rab11-binding module for visualizing and analyzing endogenous Rab11”, *Journal of Cell Science*, vol. 134, pp.jcs.257311, 2021
- 4) Tadayoshi Murakawa, Amy A. Kiger, Yuriko Sakamaki, Mitsunori Fukuda and Naonobu Fujita, “An autophagy-dependent tubular lysosomal network synchronizes degradative activity required for muscle remodeling”, *Journal of Cell Science*, vol. 133, No. 21, pp.jcs248336, 2020