

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

2021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

本研究では、内膜系に由来する細胞外小胞であるエクソソームがどこで生まれ(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)といった基本的な分子機構を解明すると共に、エクソソームの「異質性(heterogeneity)」を生み出す仕組みの解明を目指している。これまでの研究で、MDCK 細胞を上皮組織のモデル系に用いて、密着結合により隔てられた2種類の異なる細胞膜(頂端膜と側底膜)から放出されるエクソソームの蛋白質組成(マーカー分子)が大きく異なること、また両者の形成機構が全く異なることを見出している。すなわち、GPCR5CやCD63を豊富に含む頂端膜エクソソームとCD9やCD81を豊富に含む側底膜エクソソームの形成は、それぞれALIX-Syntenin1-Syndecan1複合体と中性スフィンゴミエリナーゼ2を介したセラミド代謝により別個に制御されていることから、2種類のエクソソームは元となる多胞体のレベルでも別個に細胞膜へと輸送されている可能性が極めて高い。本年度はこの可能性を検証するため、小胞輸送の中心的制御因子である低分子量G蛋白質Rabに着目し、これまでに開発したRabの発現プラスミドやノックアウト細胞株などのツールを駆使して、網羅的な局在スクリーニング及び機能解析を行った。その結果、頂端膜エクソソームの分泌にはRab27とRab37が特異的に(ほぼ独立に)関与し、側底膜エクソソームの分泌にはRab39とそのエフェクター分子が特異的に関与することを初めて突き止めた。特に、Rab37やRab39はこれまでエクソソーム分泌への関与が全く報告されておらず、非上皮性のHeLa細胞でも機能する新規の制御因子であることが明らかになった。従って、これらのRabによる異なる多胞体の輸送制御が、エクソソームの異質性を生み出すことにも貢献していると考えられる。

## § 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

### (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

### (4) 小根山グループ

- ① 主たる共同研究者: 小根山 千歳 (愛知県がんセンター研究所腫瘍制御学分野 分野長)
- ② 研究項目
  - ・細胞外小胞の異質性を制御するシグナル経路の解明: SFK 依存的な細胞外小胞産生機構の解析

## 【代表的な原著論文情報】

- 1) Hatoyama, Y., Homma, Y., Hiragi, S. & Fukuda, M., “Establishment and analysis of conditional Rab1- and Rab5-knockout cells using the auxin-inducible degron system”, *Journal of Cell Science*, vol. 134, No. 24, pp. jcs259184, 2021
- 2) Ganga, A. K., Kennedy, M. C., Oguchi, M. E., Gray, S. D., Oliver, K. E., Knight, T. A., De La Cruz, E. M., Homma, Y., Fukuda, M. & Breslow, D. K., “Rab34 GTPase mediates ciliary membrane formation in the intracellular ciliogenesis pathway”, *Current Biology*, vol. 31, No. 13, pp. 2895-2905, 2021
- 3) Trofimenko, E., Homma, Y., Fukuda M. & Widmann, C., “The endocytic pathway taken by cationic substances requires Rab14 but not Rab5 and Rab7”, *Cell Reports*, vol. 37, No. 5, pp. 109945, 2021
- 4) Kimura, S., Maeda, K., Nagashima, R., Miura, K., Arakawa, M., Ebina, H., Tanaka, N. & Morita,

E., “Efficient immunogenic peptide antigen delivery to dendritic cells using an ESCRT-mediated extracellular vesicle formation method”, *Vaccine*, vol. 39, No. 22, pp. 2976–2982, 2021

- 5) Hikita, T., Uehara, R., Itoh, R., Mitani, F., Miyata, M., Yoshida, T., Yamaguchi, R. & Oneyama, C., “MEK/ERK-mediated oncogenic signals promotes secretion of extracellular vesicles by controlling lysosome function”, *Cancer Sci.*, vol. 113, No. 4, pp. 1264–1276, 2022