

論文内容要旨

老化細胞が分泌する細胞外小胞の機能解析

主指導教員：田原 栄俊教授

(医歯薬保健学研究科 細胞分子生物学)

副指導教員：森岡 徳光教授

(医歯薬保健学研究科 薬効解析科学)

副指導教員：嶋本 顕准教授

(医歯薬保健学研究科 細胞分子生物学)

岡田 恵

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【序論】

体細胞は分裂に伴って加齢し、持続的な分裂停止の状態である細胞老化を迎えることが知られている。細胞老化は修復不能な遺伝情報の異常を有する細胞の増殖を抑制し、がん化を防ぐための重要ながん抑制機構の一つであると考えられている。本研究は、細胞老化を新たな視点から探求することを目的として、細胞間コミュニケーションに機能する細胞外小胞 (Extracellular vesicles = EVs) に注目した。EVsとは、50・300 nm 程度の脂質二重膜に覆われた細胞分泌性小胞の総称で、多種のタンパク質や microRNA (miRNA) を含有しており、細胞間情報伝達のメディエーターとして働いていることが知られている。これまでの研究から、EVsはがんの転移や免疫系の維持・応答に重要であることが示されているが、細胞老化における働きは明らかになっていない。我々は老化細胞が EVs を介して、周辺の細胞に作用して細胞非自律的な働きかけを行っているのではないかと仮説を立て、老化細胞由来 EVs の性状、及び機能解析を行い、細胞老化における EVs の生物学的意義を検討した。

【結果、考察】

1、継代早期及び老化細胞が分泌する EVs の性状比較

老化細胞が分泌する EVs の性状を明らかにするために、継代早期 TIG-3 細胞由来細胞外小胞との比較を行った。小胞の大きさは両細胞において、110・135 nm とほとんど変わらなかったが、1細胞あたりの分泌粒子数が、老化細胞で約5倍に増加していることが明らかになった。

2、老化細胞に特異的な EVs の分泌経路の検討

我々は p53 の下流遺伝子であり、EVs との関連が報告されている Maspin、CHMP4C に着目し、これらの因子が老化細胞における EVs の分泌亢進に関与しているのではないかと仮定した。

老化細胞では、Maspin と CHMP4C が発現上昇しており、またそれぞれをノックダウンした際には粒子数が有意に減少し、過剰発現した際には有意に増加した。老化細胞における EVs 分泌亢進には、p53 の標的遺伝子である Maspin、CHMP4C の細胞老化に伴う発現上昇が関与していることが示唆された。

3、老化細胞由来 EVs の生物学的意義の探索

細胞老化における EVs の分泌亢進の生物学的意義を明らかにするため、がん細胞に対する生物活性解析を行った。

乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞に添加したところ、老化細胞から分泌された EVs は、浸潤能、増殖能を有意に抑制した。また子宮頸部がん細胞株 SiHa 細胞の生存能を有意に抑制した。以上より、老化細胞から分泌される EVs には、がん細胞の浸潤能・増殖能・生存能を抑制する機能があることが示唆された。

4、EVs に内包される miRNA の、がん細胞抑制効果への関与の検討

我々は老化細胞由来 EVs のがん細胞抑制的な機能には、細胞外小胞に内包されている miRNA が関与しているのではないかと仮定した。

老化細胞由来 EVs には miR-127-3p と miR-134-5p が多く含有されていることが分かった。また、miR-127-3p、miR-134-5p はともに有意に MDA-MB-231 細胞の増殖と浸潤を抑制した。さらに、miRNA を阻害する効果のある、LNA microRNA Inhibitor (LNA) を予め導入した MDA-MB-231 細胞に対し EVs を添加したところ、control と比較して増殖能の阻害が有意に抑制された。

以上のことから、老化細胞からは、がん細胞の増殖や浸潤を抑制する効果のある EVs が分泌されており、それは内包された miR-127-3p と miR-134-5p が関与している可能性が示唆された。

【総括】

本研究によって、細胞老化に伴いヒト正常線維芽細胞 TIG-3 では、EVs の分泌が約5倍に亢進し、この分泌亢進には細胞老化の誘導に関与するがん抑制遺伝子 p53 に依存して発現上昇する Maspin、CHMP4C が関与していることが明らかになった。また、老化細胞由来 EVs はがん細胞の浸潤能や増殖能、生存能を抑制したことから、老化細胞による EVs を介したパラクリン性のがん抑制機構が示唆された。さらに、老化細胞由来 EVs には、がん細胞抑制的な機能を有する miR-127-3p と miR-134-5p がより多く含有されており、それらの miRNA が、小胞のがん抑制機構に関与していることが示唆された。本研究の結果は、がんの微小環境における EVs を用いた細胞間コミュニケーションの重要性を示す知見である。