

報道関係各位

平成 29 年 6 月 16 日
東京医科大学

エクソソームを「若返らせる」ことによる
多発性骨髄腫の血管新生抑制効果を証明
～細胞分泌物を利用した「がんの次世代細胞治療」へ新たな道筋～

東京医科大学の大屋敷純子教授、梅津知宏講師を中心とする研究チームは若年者骨髄由来細胞に特徴的なマイクロ RNA を同定しました。改変エクソソーム技術を使って、必要なマイクロ RNA をエクソソームに直接導入し、「エクソソームそのものを若返らせる」ことによって、血液がんの一種である多発性骨髄腫のがん血管新生が抑制されることを見いだしました。正常の骨髄間質細胞は細胞治療のソースとして長らく注目されていましたが、細胞から分泌されるエクソソームの加齢による機能低下については、今まで不明でした。高齢者に多い多発性骨髄腫では骨髄間質細胞の老化と共に分泌するエクソソームも機能低下し、がんの進展に係っていると考えられ、改変エクソソーム技術による「エクソソームの若返り」は、細胞自体ではなく細胞分泌物を利用する「がんの次世代細胞治療」の新しいアプローチとして期待できると考えています。この成果は 2017 年 5 月 23 日（米国東部標準時間）に米国科学誌 Blood のオンライン姉妹誌である Blood Advances に掲載されました。

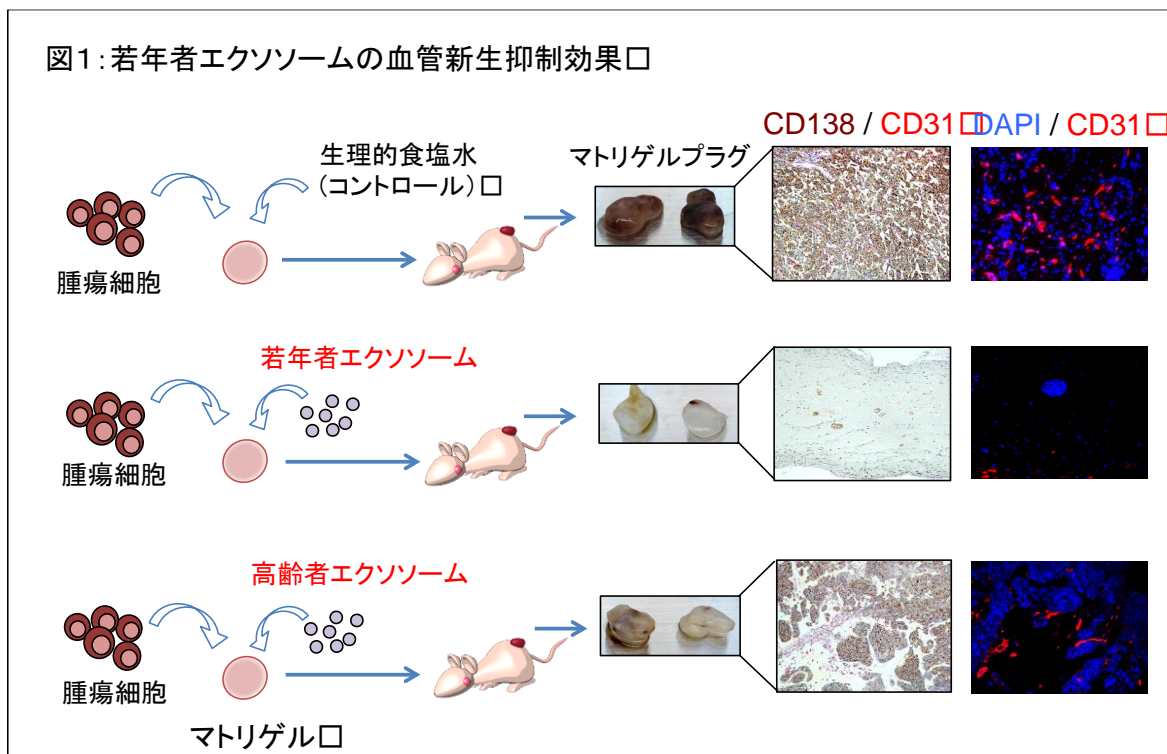
【研究の背景】

がんの発症が年齢とともに増加することは広く知られており、その要因としては免疫能の低下をはじめとして、加齢による生体防御機構の機能低下が想定されています。多発性骨髄腫は高齢者に多い血液のがんで、感染症、骨折等さまざまな症状で、高齢化社会に伴い近年増加しています。一方、広い意味での骨髄間質細胞は骨髄間葉系幹細胞を含んだ細胞集団で、免疫原性が低いことより、細胞治療のソースとして有用であることが知られています。また、健康人の骨髄間質細胞にはがん細胞の抑制効果があり、その効果については加齢による影響があるのではないかと漠然と考えられていました。エクソソームとは細胞が分泌する細胞外小胞の一種で、その中にタンパク質、DNA、RNA、マイクロ RNA などの遺伝情報が内包されており、エクソソームが細胞から細胞へ移動することによって、細胞同士のコミュニケーションが行われていることが最近明らかになりました。そこで、健康人の骨髄間質細胞が分泌するエクソソームの多発性骨髄腫に対する効果を調べるとともに、骨髄を提供する健康人の年齢によるエクソソームの差を明らかにし、がん抑制機能が低下したエクソソームを改変することによって、治療に応用できないかと考え、研究を行いました。

【本研究の概要と意義】

本研究ではまず、若年者骨髄間質細胞と高齢者骨髄間質細胞の双方で、その分泌物であるエクソソームのがん抑制効果がどう違うかを検討しました（図 1）。正常骨髄間質細胞としてはロンザ社から購入した様々な年齢層の細胞を用いました。そして、若年者骨

髄間質細胞由来エクソソーム（若年者エクソソーム）と高齢者骨髄間質細胞由来エクソソーム（高齢者エクソソーム）の機能を比較しました。腫瘍細胞は低酸素耐性多発性骨髄腫細胞株（名称：RPMI8226-HR）を用い、マトリゲルという大豆大の丸い透明のゲルに腫瘍細胞とエクソソームを同時に加え、マウスの皮下に接種し、3週間後のゲルの変化を観察しました。図1上段は生理食塩水を接種したコントロールを、中段は細胞と一緒に若年者エクソソームを、下段は高齢者エクソソームを加えています。そして、そのマトリゲルをマウスの背中の皮下に接種し、3週間後に取り出すと、生理的食塩水を加えた場合はマトリゲル内ががん血管と腫瘍細胞が充満してどす黒い赤色になっているのに対して、エクソソームを加えた場合はマトリゲルには何も起こらず、白いままです。このことよりエクソソームががん血管新生と腫瘍細胞の発育を阻止していることを意味しています。さらに、よく見ると高齢者エクソソームではうっすらと茶色い部分、すなわちがん血管新生と腫瘍細胞のわずかな発育が見られ、そのがん抑制効果は若年者エクソソームに劣ることがわかります。右端の2つの図はマトリゲルの組織を染めたものです。多発性骨髄腫特異的マーカーであるCD138と血管特異的マーカーであるCD31の二重染色で、若年者エクソソームと比べて高齢者エクソソームでは抑制効果が弱く、部分的に腫瘍細胞やがん血管が認められます。右端はがん血管新生の度合いを蛍光染色したもので、DAPI という色素で青く染まっているのが細胞の核、赤く染まっているのが CD31 陽性のがん血管です。同様に若年者エクソソームの方がすぐれたがん血管抑制効果を示していることがわかります。



次に、この若年者エクソソームの優れたがん抑制効果はエクソソームの中味の何によるものかを明らかにするため、385個のマイクロRNAについて検討しました。その結果、特定のマイクロRNA（miR-411, miR-374a, miR-340, miR-365など）が若年者エクソソームに多く含まれていることがわかりました。

そこで、高齢者エクソソームにこれらのマイクロRNA類似体を単独、または混合して直接導入し、「エクソソームの若返り」を試みたところ、導入するマイクロRNAによっては高齢者エクソソームの若返りにより若年者エクソソームと同程度のがん抑制効果が得られることがわかりました。

これらの事実から得られる結論を図2に示しました。

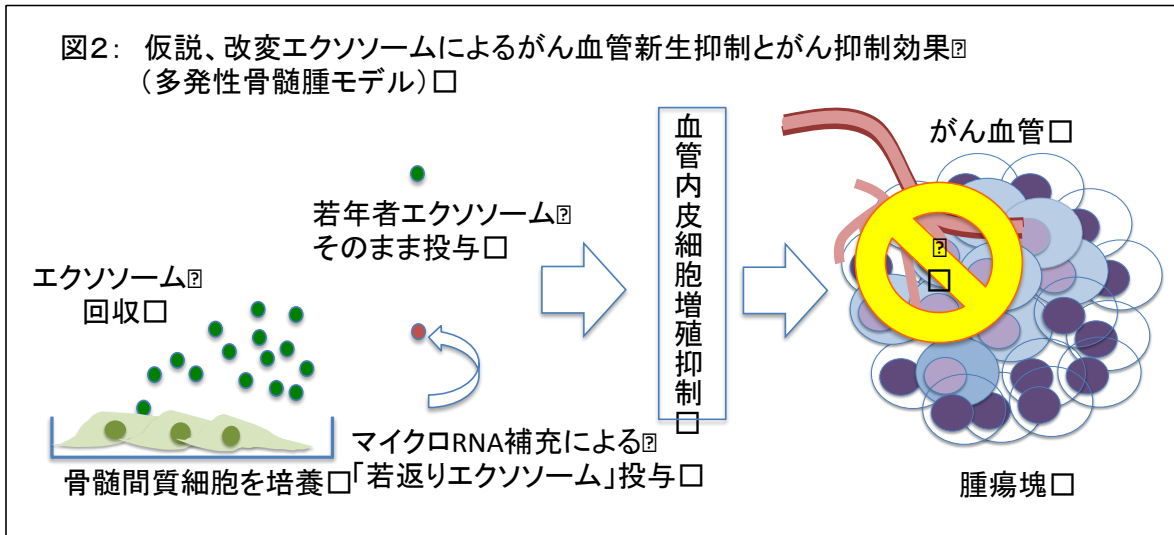


図2の左下に示したのは健康人の骨髄間質細胞をシャーレの中で培養している様子です。培養した骨髄間質細胞は大量のエクソソームを分泌しますので、それを回収します。培養した骨髄間質細胞が若年者由来であれば、若年者エクソソームとしてそのまま投与することで(図2 中央上)、血管内皮細胞の増殖を抑えます。もし、培養した骨髄間質細胞が高齢者由来であれば、改変エクソソーム作製手法を用いてマイクロRNAを補充し「若返りエクソソーム」にしてから、投与すると若年者エクソソームと同様の血管内皮細胞抑制効果がみられます。図2右は多発性骨髄腫細胞が増殖した腫瘍塊とそれに栄養を供給するがん血管(腫瘍塊の左上)を示します。さらに、これらのエクソソームを投与することで、栄養が断たれることを黄色のマークで表しています。すなわち腫瘍細胞を直接攻撃するのではなく、腫瘍が増えるための栄養血管を遮断するといういわばがんの兵糧攻めのような構図が浮かび上がります。本研究はマウスを用いたモデルですが、エクソソームのデリバリーの問題を含めて、「がんの次世代細胞治療」へと発展させたいと思います。

【今後の展望】

エクソソームの臨床応用については診断、治療とも日々飛躍的に研究が進んでいます。本研究ではエクソソーム治療のソースである骨髄間質細胞の加齢という点に着目し、新規技術を用いてエクソソームの若返りによる機能強化を実現し、その作用機序を明らかにしました。この新規技術ならびにエクソソームによる「がんの次世代細胞治療」を実現するためにはデリバリーの問題はあります。近年、エクソソームが目的の臓器に到達するための郵便番号のような目安として、インテグリンが鍵をにぎっていることが明らかになってきました。したがって、インテグリンをめやすとしたデリバリーシステムが将来確立されれば、多発性骨髄腫のみならず、多種類の臓器の固形癌においても「がんの次世代細胞治療」として期待されます。

【用語の解説】

注1) 骨髄間質細胞

骨髄の支持組織を構成する線維芽細胞、骨芽細胞、脂肪細胞、間葉系幹細胞など雑多な細胞の総称。

注2) エクソソーム

細胞が分泌する細胞外小胞(エクストラセリュラーベシクルス: EV)のうち、30から100ナノメートルのもの。なお、現在一般的に用いられている回収法ではエクソソーム分画

のみを分離することは難しく、厳密に言えば、細胞外小胞という呼称が適切で、エクソソームは便宜上の標記

注3) がん血管

がん組織、腫瘍組織に栄養を供給する血管。

注4) マイクロ RNA

遺伝子の転写制御にかかわる 20-25 塩基の一本差 RNA。

注5) マトリゲルプラグ

マウスの皮下に注入して血管新生を判定するための増殖因子を含んだゲル状の構造物。

【発表雑誌】

雑誌名 : Blood Advances 2017 1(13): 812-823

論文名 : Replenishing exosomes from older bone marrow stromal cells with miR-340 inhibits myeloma-related angiogenesis

掲載日 : 米国東部標準時間5月23日、オンラインで掲載。

【参照 URL】

Blood Advances のホームページ :

<http://www.bloodadvances.org/content/1/13?current-issue=y>

DOI: <http://doi.org/10.1182/bloodadvances.2016003251>

【研究支援】

本研究は「文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業:「生体分子情報による次世代型がん個別最適化治療法の開発:事業番号 S1311016」および日本学術振興会科研費の支援を受けています。

【お問い合わせ】

研究に関するお問い合わせ

責任著者 大屋敷 純子 (おおやしき じゅんこ)

東京医科大学医学総合研究所 分子腫瘍研究部門 教授

電話 : 03-3342-6111 (内線 5171)

FAX : 03-3345-0185

E-mail: junko@tokyo-med.ac.jp

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院

梅津 知宏 (うめず ともひろ)

東京医科大学医学総合研究所 分子腫瘍研究部門 講師

電話 : 03-3342-6111 (内線 5171)

FAX : 03-3345-0185

E-mail: t_umezu@tokyo-med.ac.jp

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院

研究以外のお問い合わせ

総務部 広報・社会連携推進課

電話 : 03-3351-6141 (代表)