

低酸素がん細胞放出エクソソームのメタボローム解析

政策・メディア研究科 修士課程1年 先端生命科学 (BI)

早坂 亮祐

低酸素は、腫瘍の特異的微小環境の一つで、がんの転移・浸潤・治療抵抗性等、悪性化に関与する。低酸素条件下では、低酸素誘導性因子(Hypoxia-Inducible Factor; HIF)の分解が抑制され、HIFが制御する代謝、増殖、血管新生、及びアポトーシスなどに関与する800個以上の遺伝子発現を誘導し、がんの予後不良に寄与する。がん細胞は周辺の正常細胞や血管内皮細胞等と情報交換し、低酸素状態へ適応・悪性化していると考えられている。

近年、細胞間の情報交換にはエクソソームと呼ばれる50~200 nmの細胞外小胞が関与することが知られている。エクソソーム研究では、小胞中のmiRNAやタンパク質等が情報伝達の因子として精力的に解析されてきた。一方で、エクソソーム中の代謝物質に着目した研究は少なく、代謝物質が細胞同士の情報伝達に果たす役割についてはわかっていない。代謝物質には、フマル酸や2-ヒドロキシグルタル酸といった発がんや悪性化に関与するものも存在し、それらがエクソソームを介して周辺細胞を変化させ、がんの悪性化を導いている可能性がある。また、低酸素条件下では細胞内の代謝が大きく変化するため、エクソソーム中の代謝物質も変化することが予想される。

そこで本研究では、低酸素状態におけるがん細胞及びそこから放出されるエクソソームに含まれる代謝物質を網羅的に解析し、エクソソームによる細胞間コミュニケーションにおける代謝物質の役割の解明を目指す。

今年度は、ヒト膵臓腺がん細胞PANC-1を低酸素(1%O₂条件)に暴露した際に、その細胞が既知の低酸素応答を示すか検討した。低酸素応答としてはHIF標的遺伝子である*VEGF*、*GLUT1*及び*LDHA*の発現亢進を指標とし、リアルタイムPCR法(図1A)とウエスタンブロッティング(図1B)で調べた。その結果、全ての標的遺伝子で発現亢進が見られた。また、同様の条件下で放出されたエクソソームを回収し、複数のメタボローム測定装置を用いてメタボローム解析を実施した。その結果、90種類以上の代謝物質の含有が明らかとなった。

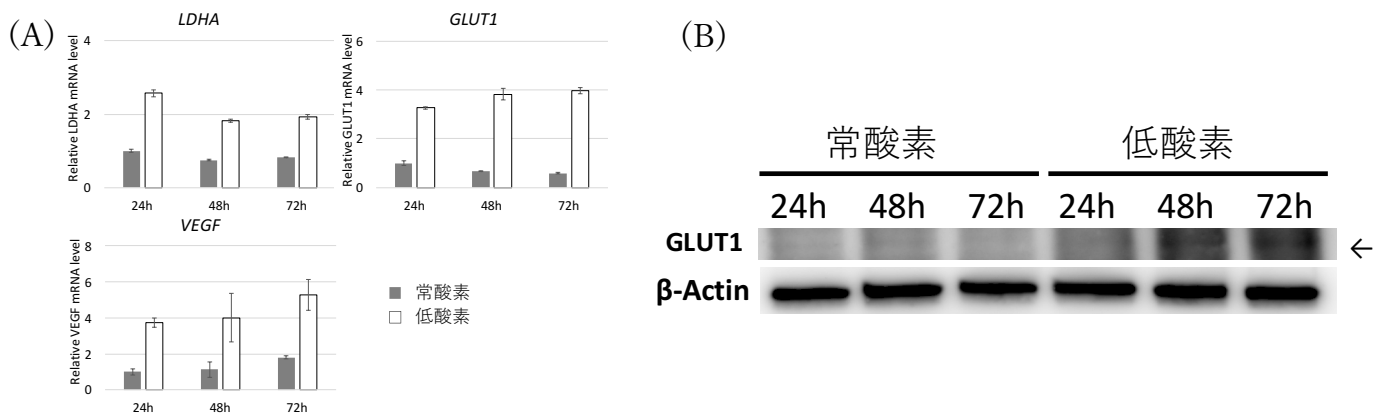


図1. 低酸素処理における低酸素関連遺伝子及びタンパク質の発現量の変化。

(A)低酸素条件下で発現量の増加が知られている遺伝子の発現量をリアルタイムPCRで観察した。

(B)低酸素条件下で発現量の増加が知られているタンパク質の発現量をウエスタンブロッティングで観察した。

※その他の本研究の詳細な成果は、国際論文誌に投稿を予定しているため、掲載を控えさせていただきます。

謝辞

森泰吉郎記念研究振興基金は膨大なメタボローム解析データの保存機器や関連書籍の購入、学会参加費用等として使用させていただきました。この場をお借りし、感謝申し上げます。