

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 7 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15369

研究課題名(和文) 血漿交換で難治性EBV関連リンパ腫が治る？

研究課題名(英文) Title Dilution effect of the tumor derived exosome

研究代表者

幸谷 愛 (KOTANI, AI)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：00517477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの研究でEBウイルス関連リンパ腫における腫瘍ニッチの形成に腫瘍が分泌する、細胞外小胞の一種、エクソソームが重要な機能を持つことを示してきた。そこでEBV関連リンパ腫において、腫瘍由来エクソソームを除去することが有効な治療法になり得るか検討した。エクソソームの希釈効果をパラビオーシスを用いて検討した。EBV感染リンパ腫NOGマウスと無処理NOGマウスの皮膚を吻合し二匹のマウスの中で体液交換を行った。その結果予想外にも、担癌マウスと担癌マウスのペア、正常マウスと正常マウスのペアに比して、担癌マウスと正常マウスのペアが吻合後早期に死亡する現象を認めた。この現象の機序を今後検討していく予定だ。

研究成果の概要(英文)：In previous study, it has been shown that the tumor derived exosome, a kind of extracellular vesicle, critically works for development of EBV+ lymphoproliferative diseases (LPD). Thereafter, in order to evaluate the efficacy of the depletion of exosome in these diseases, we tested whether the dilution of the tumor derived exosome effect on the tumor development by use of "parabiosis". As a results, the pair of mouse with and without cancer, unexpectedly died just a week after parabiosis, while that of mice with cancer and that of mice without cancer survived much longer than that. The mechanistic analysis of the result will be studied.

研究分野：血液腫瘍内科学

キーワード：エクソソーム

## 1. 研究開始当初の背景

これまでの研究で EB ウィルス関連リンパ腫における腫瘍ニッチの形成に腫瘍由来エクソソームが重要な機能を持つことを示してきた。いかに概略を示す。

エクソソームは直径 100nm 程度の細胞外小胞であり、近年細胞間コミュニケーターとして機能する事が明らかになってきた液性因子の一つである。癌においても、転移巣の形成に極めて重要な機能を持つことが明らかになった。

我々は、免疫不全マウスにヒト臍帯血を移植し、造血をヒト化したマウスに EBV を感染させる model において、EBV 由来の小分子 RNA を豊富に含むエクソソームを静注すると、マクロファージに特異的に取り込まれることによって、腫瘍形成が促進することを見出した。

以上から、腫瘍由来のエクソソームを除去することが、腫瘍形成を抑制する可能性が考えられた。

欧米においては、HIV 感染症において、患者血液中に含まれる HIV 感染細胞由来エクソソームをエクソソーム吸着膜と体外循環を用いて、除去する試みが治験レベルで行われ、効果については、不十分であったが、除去膜を用いた体外循環システムについては、安全性が確認された。

## 2. 研究の目的

そこで、現在有効な治療法がみとめられない EBV 関連リンパ腫において、HIV の治験で安全性が確認されたエクソソームを体外循環とエクソソーム除去膜を用いて除去することが、抗腫瘍効果を含む有効な治療法になり得るのか否かを検討するために研究を行うことを本研究の目的とした。

マウスでの体外循環はの系はサイズが小さいことから確立されていない。

しかし、一方、EBV 感染に必要な造血のヒト化を可能とする免疫不全マウスは体外循環が可能なラットにはまだ確立されていない。

## 3. 研究の方法

EB ウィルスは霊長類の一部にしか感染しないため、EB ウィルスの感染する B 細胞をヒト化するために、NOG マウスを造血ヒト化を行う必要がある。

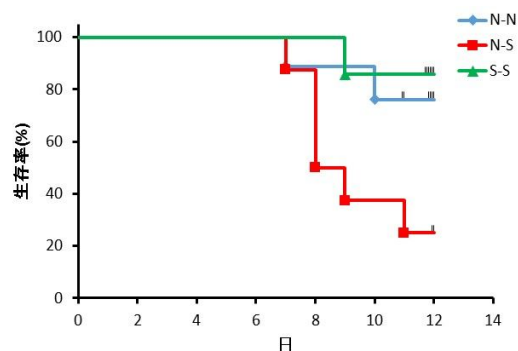
前述の通り、マウスでは体外循環が確立されていないため、予備実験として、エクソソームを希釈した際に、抗腫瘍効果が認められるのか否かを検討するために、2 匹のマウスを交通させる、パラピオーシスを用いることとした。EBV 感染リンパ腫 NOG マウスと何も処理を行っていない NOG マウスをパラピオーシスを用いて皮膚を吻合し二匹のマウスの間で体液交換を行った。これにより、担癌マウス由来エクソソームは 2 倍に希釈される。

## 4. 研究成果

通常パラピオーシスは 2 週間で血管を含む体液交通が確立されているとされる。技術的には、色素を用いて 2 週間で体液交換が完全に起こる事を確認した。

その後、体外イメージングを用いて癌の生着を確認した、担癌マウスと非担癌マウスに対してパラピオーシスを行った。

その結果、予想に反して、下図に示すよ



うに担癌マウスと担癌マウスのペア (S-S)

正常マウスと正常マウスのペア (N-N) に比して、担癌マウスと正常マウスのペア (N-S) が吻合後 1 週間という早期に死亡する現象が統計学的有意差をもって認められた。

1 週間では血球細胞の交換は行われず、液性因子のみの交換となる。体重減少を経て死亡するという現象が観察された。

上記の現象を説明する 1 つの仮説として、「担癌マウスは、癌が分泌すると考えられるエクソソームを含む液性因子に順応しているが、非担癌マウスは、順応していないため液性因子に対して、パラビオーシスによって体液交換が急激におこり、担癌マウスから流入した液性因子に対して、ショックのような病態を生じたのでないか」を考えている。この現象の機序を今後検討していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文](計 3 件)

Kishikawa T, Otsuka M, Yoshikawa T, Ohno M, Yamamoto K, Yamamoto N, Kotani A, Koike K, Quantitation of circulating satellite RNAs in pancreatic cancer patients, JCI Insight、査読有、1(8)、2016、pp.e86646  
DOI: 10.1172/jci.insight.86646

Yamamoto H, Lu J, Oba S, Kawamata T, Yoshimi A, Kurosaki N, Yokoyama K, Matsushita H, Kurokawa M, Tojo A, Ando K, Morishita K, Katagiri K, Kotani A, miR-133 regulates Evi1 expression in AML cells as a potential therapeutic target, Scientific Reports、査読有、6、2016、pp.10294  
DOI: 10.1038/srep19204

Sato A, Yamakawa N, Kotani A, Pathogenesis and novel therapy for EBV-related B-cell lymphoma, Rinsho Ketsueki、査読有、57(1)、2016、pp.3-8  
DOI: 10.11406/rinketsu.57.3

##### [学会発表](計 7 件)

Kotani A, 転写因子欠損下における miRNA

による細胞運命制御、第 39 回日本分子生物学会年会、2016 年 11 月 30 日 ~ 2016 年 12 月 2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

Kotani A, EBV Establishes the Tumor Microenvironment by Exosome-mediated Delivery of miRNA to Macrophages, 57th Autumn Meeting of the Korean Society of Hematology, 2016 年 11 月 11 日 ~ 2016 年 11 月 12 日、Daejeon Convention Center (韓国・大田広域市)

Kotani A, A single miRNAs rescue transcriptional factor deficiency in B cell lineage specification though TGF beta pathway, 第 78 回日本血液学会学術集会、2016 年 10 月 13 日 ~ 2016 年 10 月 15 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

Kotani A, EBV establishes the tumor microenvironment by exosome-mediated delivery of miRNA to macrophages, 第 75 回日本癌学会学術総会、2016 年 10 月 6 日 ~ 2016 年 10 月 8 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

Kotani A, 転写因子欠損を補完する miRNA による造血運命決定機構と白血病の新しい理解、第 89 回日本生化学会大会、2016 年 9 月 25 日 ~ 2016 年 9 月 27 日、仙台国際センター / 東北大学川内北キャンパス (宮城県・仙台市)

Kotani A, EBV establishes the tumor microenvironment by exosome-mediated delivery of miRNA to macrophages, 2nd Bio-iST Symposium 2016, 2016 年 05 月 14 日、マレーシア日本国際工科院 (マレーシア・クアラルンプール)

幸谷愛、転写因子欠損下でも miRNA は B 細胞の運命を決定する、第 74 回日本癌学会学術総会、2015 年 10 月 8 日 ~ 2015 年 10 月 10 日、名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

##### [図書](計 1 件)

Kotani A, Springer Japan, Chronic Inflammation Mechanisms and Regulation, 2016, 702 (pp.235-245)

##### [産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

幸谷研究室 <http://k-lab.jp/>

JS さきがけ慢性炎症領域研究者紹介

[http://inflam.jst.go.jp/research/p\\_2404](http://inflam.jst.go.jp/research/p_2404)

[kotanil/index.html](http://kotanilab.jp/index.html)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

幸谷 愛 (KOTANI, Ai)

東海大学・医学部・教授

研究者番号 : 00517477