

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：32644
 研究種目：挑戦的研究（萌芽）
 研究期間：2020～2021
 課題番号：20K21550
 研究課題名（和文）分泌性PLA2による新しいエクソソームバイオロジーの構築

研究課題名（英文）Novel Exosome Biology with sPLA2

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、悪性リンパ腫組織中の腫瘍随伴マクロファージ（TAM）から分泌されるsPLA2が腫瘍細胞由来EVのリン脂質を分解することを証明しました。さらに、この分解により「細胞への取り込まれやすさ」や「免疫抑制効果」などのEVの機能が飛躍的に向上し、さまざまな生命現象が誘導されることが分かりました。このとき、EVリン脂質の分解産物であるリゾリン脂質などが細胞にシグナルを伝達しているという、これまでのEV生物学にはない新規作動メカニズムを介することを発見しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではリンパ腫由来EVのみならず他のがん細胞由来EVもsPLA2により分解されることを証明し、sPLA2-EV軸は腫瘍形成において共通の現象であることを明らかにしました。今後はこのsPLA2-EV軸が新たな「免疫チェックポイント」として、がん治療のための新しい薬物標的となることが期待されます。また本研究で証明されたsPLA2によるEV機能の増強効果から、過去に幸谷グループで報告した「組織保護・抗炎症作用を持つEV」などのさまざまな種類のEVが持つ固有の能力をsPLA2が増強するのではないかと仮説の検証も現在行っており、今後は治療的応用への発展も期待されます

研究成果の概要（英文）：In this study, we demonstrated that sPLA2 secreted by tumor-associated macrophages (TAMs) in malignant lymphoma tissue 2 secreted by tumor-associated macrophages (TAMs) in malignant lymphoma tissue degrades phospholipids in tumor cell-derived EVs. Furthermore, we found that this degradation dramatically improves the functions of EVs, such as "ease of cellular uptake" and "immunosuppressive effect," and induces various biological phenomena. In this case, they discovered that lysophospholipid, a degradation product of EV phospholipids, is involved in signaling to cells through a novel operating mechanism that has never been observed in EV biology before. The research group has also discovered a novel mechanism of EV signaling in human lymphomas. Using a mouse model of human lymphoma development, the research group demonstrated that sPLA2-mediated EV degradation is essential for tumorigenesis.

研究分野：血液内科学

キーワード：細胞外小胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

東海大学幸谷研究室では、これまでに Epstein - Barr ウイルス (EBV) 陽性 B 細胞性悪性リンパ腫の発症における腫瘍細胞が分泌する細胞外小胞 (Extracellular vesicle ; EV) の役割を内包される核酸を中心に調査してきましたが、その作動メカニズムの全容は明らかになっていませんでした。そこで、EV に内包される物質を包括的に解析する必要があると考え、核酸のみならず、タンパク質や脂質に研究対象を拡大させてきました。

一方、東京大学 村上グループでは、脂質研究、特にリン脂質の研究を専門とし、これまでに細胞外環境に存在するリン脂質分解酵素「分泌型ホスホリパーゼ A₂ (sPLA₂)」が関与する数多くの生命現象を明らかにしてきましたが、実際に sPLA₂ が細胞外で基質としているリン脂質の供給源は不明でした。

2. 研究の目的

幸谷研究室と村上研究室との共同研究が開始され、

sPLA₂ が EBV 陽性 B 細胞性悪性リンパ腫腫瘍細胞由来 EV のリン脂質膜を分解するのか？ 分解する場合、腫瘍化への影響などにおいて、どのような生物学的意義があるのか？ を解明することを目指しました。

3. 研究の方法

免疫不全マウスにヒト臍帯血を移植し、造血系をヒト化した後、EBV に感染させリンパ腫を発症させる腫瘍微小環境もヒト由来というユニークなマウスモデルと、細胞培養、試験管内の脂質関連実験、リポドミクス解析を駆使し以下を明らかにしました。

悪性リンパ腫組織中のヒト由来腫瘍随伴マクロファージ (TAM) から分泌される sPLA₂ が腫瘍細胞由来 EV のリン脂質を分解することをリポドミクス解析を用いて証明しました。さらに、この分解により主にマクロファージで起こる「細胞への取り込まれやすさ」や「免疫抑制効果」などの EV の機能が飛躍的に向上することを細胞培養で明らかにしました。その結果サイトカイン産生など、さまざまな生命現象が誘導されることが分かりました。このとき、EV リン脂質の分解産物であるリゾリン脂質などが細胞にシグナルを伝達しているという、これまでの EV 生物学にはない新規作動メカニズムを介することを、東北大、東大との共同研究にて発見しました。

さらに上述のヒトにおけるリンパ腫発生を再現したユニークなモデルマウスを使って、sPLA₂ による EV 分解が腫瘍形成において必要不可欠であることを証明しました。また実際のヒト患者検体の解析からも sPLA₂ が腫瘍形成と悪性化に関わることを示しました。

4. 研究成果

本研究ではリンパ腫由来 EV のみならず他のがん細胞由来 EV も sPLA₂ により分解されることを証明し、sPLA₂ - EV 軸は腫瘍形成において共通の現象であることを明らかにしました。今後はこの sPLA₂ - EV 軸が新たな「免疫チェックポイント」として、がん治療のための新しい薬物標的となることが期待されます。また本研究で証明された sPLA₂ によ

るEV機能の増強効果から、過去に幸谷グループで報告した「組織保護・抗炎症作用を持つEV」などのさまざまな種類のEVが持つ固有の能力をsPLA₂が増強するのではないかという仮説の検証も現在行っており、今後は治療的応用への発展も期待されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Masatohsi Ito ,Kai Kudo ,Hiroshi Higuchi, Hiroko Otsuka,Masyuki Tanaka, Noriko Fukunishi ,Takanori Araki , Masako Takamatsu,Yoko Ino ,Yayoi Kimura, Ai Kotani. | 4. 巻 35(4) |
| 2. 論文標題 Proteomic and phospholipidomic characterization of extracellular vesicles inducing tumor microenvironment in Epstein-Barr virus-associated lymphomas. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 FASEB JOURNAL | 6. 最初と最後の頁 e21505 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.202002730R. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 So Nakagawa, Masaharu Kawashima, Yuji Miyatake, Kai Kudo, Ryutaro Kotaki, Kiyoshi Ando, Ai Kotani. | 4. 巻 773 |
| 2. 論文標題 Expression of ERV3-1 in leukocytes of acute myelogenous leukemia patients. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Gene | 6. 最初と最後の頁 145363 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gene.2020.145363. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Masatoshi Kakizaki, Yuichiro Yamamoto, Motoyuki Otsuka, Kouichi Kitamura, Masatoshi Ito, Hideki Derek Kawai, Masamichi Muramatsu, Tatehiro Kagawa, Ai Kotani. | 4. 巻 295(35) |
| 2. 論文標題 Extracellular vesicles secreted by HBV-infected cells modulate HBV persistence in hydrodynamic HBV transfection mouse model | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of biological chemistry | 6. 最初と最後の頁 12449 - 12460 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA120.014317. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Ryutaro Kotaki, Masaharu Kawashima, Asuka Yamaguchi, Naoto Suzuki, Ryo Koyama-Nasu, Daisuke Ogiya, Kazuki Okuyama, Yuichiro Yamamoto, Masako Takamatsu, Natsumi Kurosaki, Kiyoshi Ando, Akihiko Murata, Masato Ohtsuka, So Nakagawa, Koko Katagiri, Ai Kotani. | 4. 巻 10(1) |
| 2. 論文標題 Overexpression of miR0669m inhibits erythroblast differentiation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific reports | 6. 最初と最後の頁 13554 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-70442-y | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Masaharu Kawashima, Joaquim Carreras, Ai Kotani. et al. | 4. 巻 34(9) |
| 2. 論文標題 PD-L1/L2 protein levels rapidly increase on monocytes via trogocytosis from tumor cells in classical Hodgkin lymphoma. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Leukemia | 6. 最初と最後の頁 2405-2417 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-020-0737-9 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yushi Imai, Tetsuhiro Chiba, Takayuki Kondo, Hiroaki Kanzaki, Kengo Kanayama, Junjie Ao, Ryuta Kojima, Yuko Kusakabe, Masato Nakamura, Tomoko Saito, Ryo Nakagawa, Eiichiro Suzuki, Shingo Nakamoto, Ryosuke Muroyama, Akinobu Tawada, Tomoaki Matsumura, Tomoo Nakagawa, Jun Kato, Ai Kotani, Hisahiro Matsubara, Naoya Kato. | 4. 巻 20(3) |
| 2. 論文標題 Interferon- induced PD-L1 expression and soluble PD-L1 production in gastric cancer. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Oncology letters | 6. 最初と最後の頁 2161-2168 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11757 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Ryo Koike, Marni E Cueno, Keiko Nodomi, Muneaki Tamura, Noriaki Kamio, Hajime Tanaka, Ai Kotani, Kenichi Imai. | 4. 巻 25(17) |
| 2. 論文標題 Heat-Killed Fusobacterium nucleatum Triggers Varying Heme-Related Inflammatory and Stress Responses Depending on Primary Human Respiratory Epithelial Cell Type. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 3839 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25173839 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Yuichiro Yamamoto, Masatoshi Kakizaki, Ai Kotani. et al. | 4. 巻 32(8) |
| 2. 論文標題 PD-L1 is induced on hepatocyte surface via CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing protein 6 upregulation by the anti-HBV drug Entecavir. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International immunology. | 6. 最初と最後の頁 519-531 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa018 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Ryutaro Kotaki, Masaharu Kawashima, Yuichiro Yamamoto, Hiroshi Higuchi, Etsuko Nagashima, Natsumi Kurosaki, Masako Takamatsu, Yara Yukie Kikuti, Ken-Ichi Imadome, Naoya Nakamura, Ai Kotani. | 4. 巻 10(1) |
| 2. 論文標題 Dasatinib exacerbates splenomegaly of mice inoculated with Epstein-Barr virus-infected lymphoblastoid cell lines. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific reports | 6. 最初と最後の頁 4355 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-61300-y | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 村上 誠 (Murakami Makoto) (60276607) | 東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授 (12601) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |