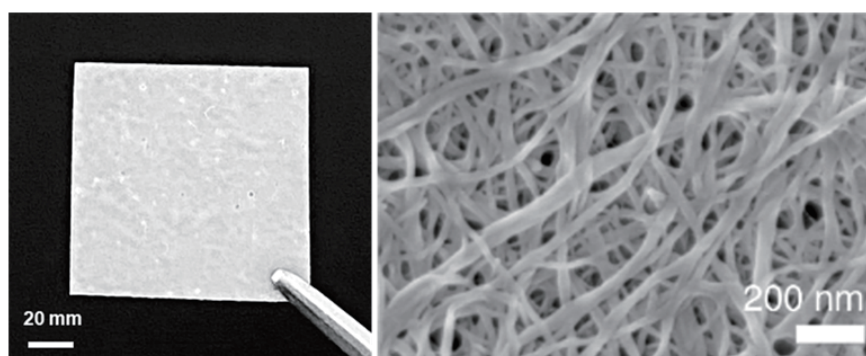


【目的】 本研究は、エクソソームを始めとした細胞外小胞 (Extracellular Vesicle : EV) を対象とし、従来の技術では EV の回収が困難であった極めて微量な体液から、特殊なマテリアルシート (EV シート) を用いて回収・解析する新たな手法を開発することを目的とする。EV が生理活性をもった分子を搭載し細胞間を水平移動することで、細胞間相互作用に関与することが 2007 年に報告されて以降、急速に研究が進み、現在では世界各地で EV の基礎的研究からトランスレーショナル研究まで盛んにおこなわれている。我々は、EV シートという新しいマテリアルを用いてわずか $10\mu\text{L}$ の血清から、EV シートは効率的に EV を回収できる新たなツールを開発した。さらに、湿潤した臓器、とりわけ腹水からの回収も可能である。EV シートは、これまで単一の体液とされていた腹水 EV を、より解像度高く、位置情報という新しい観点からの Heterogeneity 解析を行えるという点において革新的手法である。本研究では、この生体内における体液の不均一性を、EV シートを用いることで明らかにし、がんの進展度に応じた挙動を体液が起こし得るのか、またその変化は癌悪性化においてどのような意義をもつか、さらにはその変化を標的として治療戦略の提唱を目指す。

【方法】 EV シートを用いて、生体内 EV 解析を行った。人の体液、血清、腹水、唾液、尿を対象として、検討を行った。EV シートを用いて補足・回収した EV は、電子顕微鏡撮影、EV タンパク質マーカー検討、ナノ粒子解析装置を用いて解析を行い、EV 関連核酸、主には miRNA を対象とするが、RNA は次世代シーケンサーを用いて解析を行った。対象疾患モデルとして卵巣がんを設定し、マウスでの検討も行った。

【結果】 EV シートによって回収した EV から RNA を抽出し、Small RNA シーケンスを行ったところ、再現性よく miRNA プロファイルが取得できることが確認され、EV に関連しないフリーの miRNA は除去できていることも確認した。マウス微量腹水から回収した EV も解析可能であり、微量腹水中 EV には超早期でもがんのプロファイルを有した EV が確認できた。ヒト腫瘍組織からの回収にも成功し、これまで解析できなかった腫瘍表面のエクソソーム中の分子プロファイルが解析可能となった。現在、生体内からの直接採取による検討を行っている。

微量体液からのエクソソーム回収のためのEVシート



1 cm角EVシートの写真

EVシートの繊維 (電顕像)