

12. がん由来細胞外小胞を取り込む細胞の組織内分布の解析

早稲田大学高等研究所 講師 西田 奈央

概要

本研究では、がん由来細胞外小胞（EVs）が、がん組織内でどの細胞に、いつ、どのように受け渡されるかを定量的・時空間的に解明することを目的とした。マウス脳および肺の生理的構造を保持した組織スライス培養系を最適化し、EVs ラベルとして CD63-HaloTag を導入した乳がん細胞を播種することで、*ex vivo* 転移モデルを構築した。2光子顕微鏡によるライブイメージングにより組織内での EV 動態観察に成功し、細胞間での分泌活性の違いを明らかにした。さらに、組織上の EVs の分布は均一ではなく、脳では主にミクログリア、肺では上皮細胞や線維芽細胞に選択的に取り込まれることを見出した。これらの結果は、同一の乳がん EVs が臓器により異なる細胞に作用することを示唆し、転移成立における EVs の役割の新たな理解につながる。本研究助成により、構想段階であった研究計画を実現し、今後の研究展開につながる非常に興味深い知見を得ることができたことに深く感謝申し上げます。

背景および目的

エクソソームを含む細胞外小胞(Extracellular vesicles, EVs)は、細胞間の情報伝達を担うナノサイズの粒子である。タンパク質、RNA などの生理活性物質を含む脂質二重膜構造で、ほぼ全ての細胞が分泌し、一つの細胞から別の細胞に受け渡されることで情報を伝達する。がん細胞は多くの EVs を分泌し、近傍の正常な細胞に受け渡すことでがん促進性の性質へと変化させ、がん組織全体としてがんの悪性化や転移能を高めている。しかし、これまでの研究は実験室の培養細胞の上清や体液から回収した液体中の EVs を中心に行われ、組織内の EVs の受け渡しに関する知見は少なかった。本研究では、生理的組織構造を保持した *ex vivo* 組織スライス培養系を用いることで、組織内での EVs 検出の技術的問題を解決し、組織内で EVs がどの細胞に取り込まれるのかという空間的・細胞種特異性を明らかにすることを目的とした。

方法と結果

生理的な組織構造内での乳がん細胞による EVs の受け渡しを直接観察することを目指して、組織スライス培養技術を応用して *ex vivo* 乳がん転移モデルを樹立した。組織スライス培養とはがん組織や臓器を生きたまま薄切りにして実験室で培養したものであり、元々の組織構造と細胞組成を保持しているため組織モデルとして応用できる。今回、乳がんの主要な転移先であるマウス脳および肺組織を用いて、生きたままビブラトームで 250–300 μm 厚の組織スライスを作製し、セルカルチャーインサート上で気液界面培養を行った。また、EVs の高感度な検出方法として、EVs 表面に豊富に存在するテトラスパニンタンパク質 CD63 の N 末端に Halo タグを融合させ、蛍光標識にて検出する系を構築し、乳がん細胞に安定的に発現させた。この乳がん細胞を、マウス脳・肺スライスに数十個程度播種することで、がん細胞の播種直後を再現し、がん EVs の挙動を観察可能な *ex vivo* 乳がん脳・肺転移モデルを確立した。播種したがん細胞は組織スライスに定着した。

この ex vivo 転移モデルを用いて 2 光子顕微鏡を用いてがん細胞による EVs 分泌のリアルタイム観察を行い、播種したがん細胞が活発に EVs を放出している様子のライブイメージングに成功した。複数の細胞を観察する中で、ある細胞は活発であるのに対し別の細胞はあまり EVs 分泌していないことを見出し、細胞によっても EVs 分泌活性に多様性が見られることが分かった。

次に、乳がん EVs を取り込む細胞種類の特定を行った。臓器スライス培養を用いた EVs の取り込み実験では、EVs 分布に明確に偏りが見られ、EVs は全ての細胞に均一に取り込まれるのではなく、細胞特異的な取り込みが明らかになった。乳がん EVs の受容細胞の特定を免疫染色およびフローサイトメトリーで進めたところ、脳ではミクログリアによく取り込まれた一方で、肺ではマクロファージにはあまり入らず肺胞上皮細胞に主に取り込まれていた。この結果は、同じ乳がん EVs であっても、脳と肺とでは EVs の取り込まれる細胞の種類が異なり、臓器によりがん EVs の作用が異なることを示唆する（論文投稿準備中）。

考察と今後の展開

本研究により、生理的な組織環境における EVs 輸送の時空間的制御の一端が明らかになった。同じがん由来 EVs であっても、臓器ごとに異なる標的細胞が存在し、その作用も異なることが示唆され、これががん転移の臓器特異性を説明する一因となる可能性がある。さらに、これらの結果は、EVs による情報伝達が単なる拡散的な現象ではなく、分泌量の不均一性や組織環境による取り込みの違いによって、多層的に制御されていることを示している。

現在、がん EVs を取り込んだ細胞における分子変化を解析するため、空間トランスクリプトーム解析を進めている。これにより、EVs の選択的な輸送ががん転移成立にどのように寄与するかを明らかにしたい。さらに今後は、EVs 分泌の差を生み出す機構や、標的細胞ごとの取り込み特異性を規定する分子機構を解明し、転移制御に向けた新たな治療標的の探索へとつなげていきたい。

(完)

発表論文

- 1) **Nishida-Aoki, N.***, Takahiro Ochiya. Decoding Metastasis Initiation through spatiotemporal extracellular vesicle-mediated intercellular signaling. *Corresponding author, Invited review in *Current Opinion in Biology*, *in press*
- 2) **Nishida-Aoki, N.*** Ochiya, T. Elucidating Extracellular Vesicle Transfer in Tissue Context. Invited review in *Cancer Sci.* Wiley, 115, 1726-1737 (2024). *Corresponding author, Issue highlights
- 3) (分担執筆)エクソソーム・ワールド：生物界を繋ぐ新規モダリティーの将来像「時空間解析とシングル EVs 解析が拓くエクソソーム研究の新展開」CMC 出版 2026 年 2 月
- 4) (分担執筆)**Nishida-Aoki, N.*** Ochiya, T. Enrichment and modulation of extracellular matrix by cancer extracellular vesicles. The book “Extracellular vesicles as matrix messengers” in *Biology of Extracellular Matrix* series. *Corresponding author, Springer Publishing. 57-78, 2024