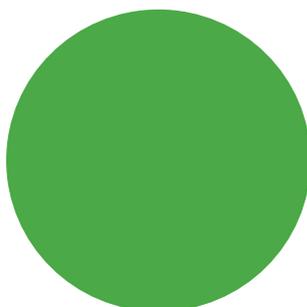
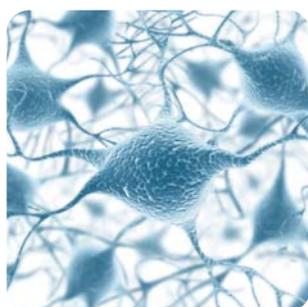
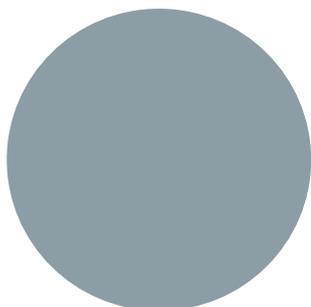
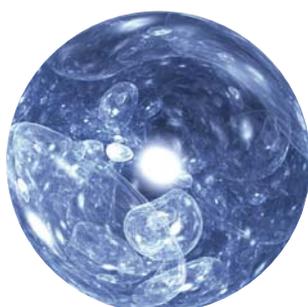
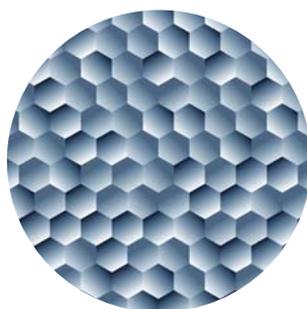
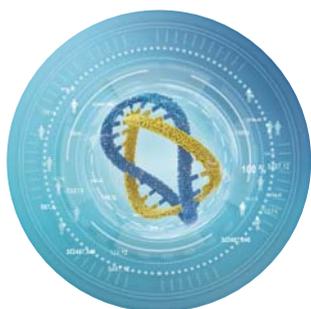


ASCA Bulletin

July 2016 vol. 14



■ プロフェッショナルに聞く

- **エクソソームをターゲットとした画期的がん研究**
— 生命現象のカギを握るコミュニケーター
- **再生医療の実用化に向けたイノベーションを創出する**
— 神奈川県ヘルスケア・ニューフロンティア政策の取組み

■ ASCA Letter : 意外と身近な メディカルライティング

■ ASCA 掲示板 : 有意性 (significance) ってどうやって調べるの? ~ 論文の「Statistical Analysis」を読み解く~

■ 科学誌サイエンス記事 : マウスの精子形成と生殖に必要なY染色体の代わりとなる2遺伝子

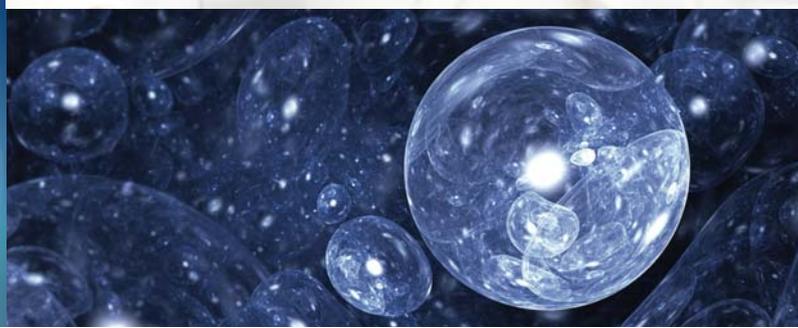
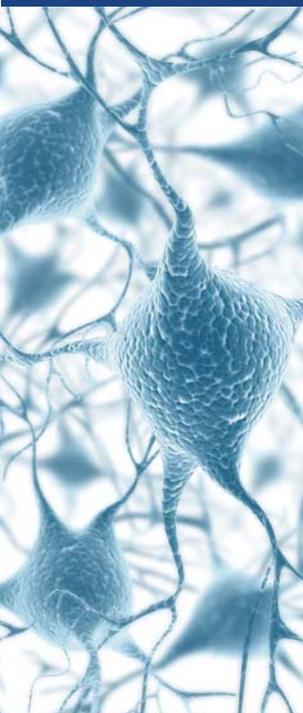
プロフェッショナルに聞く

エクソソームをターゲットとした画期的がん研究 — 生命現象のカギを握るコミュニケーター —

おちや たかひろ
落谷 孝広 主任分野長

国立研究開発法人国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野

がんの克服のための研究は、遺伝子変異やタンパク質ファミリー合成などにまつわる、細胞内での様々な生命機能を明らかにしてきました。発見当初は存在意義のわからなかった物質や構造も、この数年で次々に役割と機能が解明されています。今回は、がんの発生や転移のキープレイヤーとして注目されるマイクロRNAとエクソソームに関して先進的な研究に取り組んでいる、国立研究開発法人国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野 落谷 孝広 主任分野長にお話を伺いました。



がんとmiRNA

ヒトはがんになりますが、マウスは非常に悪い環境にいてもがんになりません。ヒトとマウスはゲノムの塩基対数もそれほど変わらず、共通性もきわめて高いのに、なぜヒトはがんになりマウスはならないのか疑問でした。実は、ヒトとマウスでは、低分子RNAの一種であるマイクロRNA (miRNA)¹⁾の種類が異なっており、ヒトにあってマウスに無いmiRNAがあることがわかっています。ということは、我々人間が持っている能力はmiRNAの数が増えたことによって進化・形成されてきたのではないかと。miRNAの異常がヒトの疾患にも影響していて、疾患の原因を解く鍵がそこにあるのではないかと考えることができます。

そこで、がん患者の血液中でどのmiRNAの発現量が上昇し、どのmiRNAが発現低下しているかを観察しました。その結果、発現量の高いmiRNAはがん遺伝子のような働きをし、増えるとがんを起こしてしまう一方、発現低下したmiRNAは正常な細胞を守るガードの役割をしていて、ダウンしてしまうと悪いことが次々に起こり、最終的には治療に抵抗性を示すがん細胞ができてしまう、ということがわかってきました。すなわち、miRNAを標的にすることで新しいがんの治療ができると思われる段階にきています。世界中でいくつかの臨床研究が開始されており、私たちも準備を進めています。

血液一滴からがんの早期発見

ヒトのmiRNAは2,588種類あり、細胞内で遺伝子発現の調節をはじめ様々な役割を担っています。2006年頃、このmiRNAが細胞外にも分泌されていることに世界中の研究者たちが気づき始めました。細胞がアポトーシスやネクローシスなどによって死ぬと、内容物である核酸DNAやRNAの断片も一時的に細胞外に出て行きます。しかし、それだけで説明がつかないほどの大量のmiRNAが血液中に存在するという疑問があり、生きた細胞からも外に分泌されているのではないかと考えられたのです。そこへ、2008年に、血液中のmiRNAの増減が血球系のがんのマーカーになりうるという論文が海外で発表されました²⁾。わが国でも同年、東京医科大学 分子病理学分野の黒田雅彦教授と我々のグループが、血液中のmiRNAの振る舞いを見ることによって、がんが増えているのか、無くなったのか、転移しているのかという体内のがんの状態がわかるのではないかと、という論文を発表しました³⁾。その後、世界中で、血中miRNAによる新しい診断法の開発が進められています。日本では2014年から私が開発責任者をしているプロジェクト「体液中マイクロRNA測定技術基盤開発」が開始され、血液一滴でがんを診断し、がんを早期発見するという目標に向けて研究が進められています。今年度で3年目を迎え、現在は日本医療研究開発機構 (AMED) のプロジェクトに移行し、現段階で2万検体以上の解析が終わっています。検体には、がん患者、コントロールとしての健常人、加えて認知症やアル

ツハイマー患者の方々のものも含まれ、それぞれのがんや疾患について特異的な血中miRNAが見つかっており、これらをバイオマーカーとした早期発見が可能であることもわかってきました。早期発見ががんによる不幸な死亡を減らすことを示す科学的根拠はすでに揃っているため、国家レベルの方策として、日本人の二人に一人ががんになるという現状を早く脱し、がんによる生産性の低下、それに伴う世界における日本のステータスの低下や、医療費の高騰による国家財政の圧迫といった危機的状況を改善することが期待されています。将来的には、miRNAによる診断を健康診断や人間ドックで実践し、個人レベルでも医療費の節約とがんによる死亡を避けられる時代が来ることを願っています。

エクソソーム・miRNAは細胞のコミュニケーションツール

miRNAは細胞から分泌されて、血液をはじめ様々な体液に循環しているのですが、その意味を別の角度から考える研究も進められています。発端となったのが2007年にヨーテボリ大学 (スウェーデン) のJan Lötvall博士が発表した論文⁴⁾です。血液中のmiRNAは裸でいるのではなく、脂質二重膜で包まれた細胞外小胞であるエクソソーム (exosome) というナノ粒子の中にパッケージされており、細胞が分泌するエクソソームが細胞間コミュニケーションのツールとして働いているというアイデアを提唱しました。miRNAは、miR-21などのように種類によって番号が付けられています。それぞれが特定の遺伝子を制御する、あるいは一つが複数の経路を同時に制御するという大きなパワーを持ち、それを受け取った細胞では非常に大きなイベントが起こります。我々が「細胞同士のおしゃべり」と呼んでいる、細胞と細胞がコミュニケーションをとるためのツールとして、エクソソームあるいはその中のタンパク質ファミリーやmiRNAなどが使われているという姿が浮かび上がってきたのです。

がんは、がん細胞とそれ以外の様々な種類の細胞で構成されています。血管内皮細胞や繊維芽細胞などの間質細胞 (ストローマ細胞)、逆にがん細胞を攻撃しにやってくる免疫細胞、それらの集合体です。こうしたがんの微小環境は、まさにそこで細胞がコミュニケーションしているという状況を示しています。がん細胞は血管内皮やストローマ細胞に対しては味方につけるための指示を出し、逆に自分を攻撃しようとするT細胞のような免疫細胞に対しては撃退シグナルを出しています。この現象は、分泌されたサイトカインやケモカインの濃度勾配に誘導される、あるいは細胞と細胞のダイレクトな接着によって行われていることが示されていました。ところが、それに加えてmiRNAを内包したエクソソームを使った、パワフルで確実な情報伝達が行われていることがわかったのです。がん細胞は自分が宿主 (患者) の中で生き延びるための手段として、エクソソームに様々な情報を詰め込んで放出し周囲の細胞を操っていると云えます⁵⁾。

1) タンパク質ファミリーへの翻訳を伴わずに機能するノンコーディングRNAのひとつで、2001年に発見された。20~25の短い塩基長からなる。

2) Mitchell PS et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jul 29;105(30):10513-8.

3) Yamamoto Y et al. Biomarkers. 2009 Nov;14(7):529-38.

4) Valadi H et al. Nat Cell Biol. 2007 Jun;9(6):654-9.

5) Kosaka N, et al., J Clin Invest, 26(4):1163-72, 2016

がんの転移とエクソソームの振る舞い

がんで不幸な死が訪れる原因の9割は転移によるものです。しかし、転移を抑える薬は開発しにくく時間がかかります。例えば乳がんでは10~20年を経て転移が生じるケースもあるため、その薬剤の開発はエビデンスを得るまでに相当の期間を要します。これまでの薬は、がん細胞を押さえつけようとしてきましたが、がん細胞は非常に賢く、一つの経路が閉ざされても次々に別の経路を動かしたり、二次的な変異で攻撃を逃れるなどの手段を備えていて、いたちごっこ状態です。この状況を打開するには、ゲノムサイエンスの情報なども含め、別の観点からもがんというものを見直す必要があるでしょう。私たちは、がんが分泌するエクソソームの意味を理解することがそのきっかけになると考えています。

興味深いことに、がん細胞のエクソソームの分泌を止めるとがんの転移がなくなります。シャーレ上でも動物に移植したがんでも増殖のスピードはあまり変わらないのですが、エクソソームの分泌を止めるだけで他臓器への転移が大きく抑えられるという前臨床の報告が数多くなされており、私たちもそれを世界に先駆けて発表しています。がん細胞が分泌するエクソソームだけを止めるようなアプローチが実現すれば、新しい薬の候補になるでしょう。従来の薬のようにがんを徹底的に叩いた結果、別の経路を動かして逃がしてしまうという事態を防げるかもしれません。

一方、エクソソームをバイオマーカーとして利用する研究も進められています。エクソソームの脂質二重膜の表面に乗っている多くの分子の中にはがん特異的な表面たんぱく抗原があり、これをmiRNAとは別のバイオマーカーとして使える可能性があります。つまり、血液や尿などの体液でこういう表面分子を持ったエクソソームが多ければ、がんの転移がいち早くわかるようになるかもしれないのです。私たち国立がん研究センターが掲げるミッションの「がんにならない、がんになってもそれと共存して活動できることを目指し、天寿を全うしうる社会を実現する」ためにも、エクソソームの研究をがん転移の早期発見や個別化医療の開発につなげていくことが期待されます。

しかし一方で、正常細胞も含めあらゆる細胞がエクソソームを分泌しているといわれているため、エクソソームに作用する薬については副作用が懸念されます。本当に悪い細胞・がん細胞のエクソソームだけを止めることができるのか、これが大きな戦略上のポイントです。というのは、現段階では正常なエクソソームの理解が十分ではないからで、今確実に言えるのは、エクソソームが細胞や組織を越えた何か重要な働きをしているということだけなのです。

2010年に発表した我々の研究で、母乳の中のエクソソームは、それを飲む赤ちゃんの腸管免疫を発達させる重要な働きをしていることがわかっています⁶⁾。また、エクソソームの分泌を止めたマウスが不妊になるという発表もあり、エクソソームが生殖系に影響していることは十分にあり得ます。また、細胞間の

コミュニケーションを盛んに行っているのは脳ではないかと多くの研究者が予測しています。脳の疾患においてエクソソームが何らかの役割を持っていることが次々と明らかになりつつあります。脳神経細胞とそれを取り巻くグリア細胞の間にエクソソームを介した何らかのシステムが成り立っている可能性があり、それが記憶なのか情報の制御なのかは不明なため、基礎的な研究を十分に行う必要があると思っています。

世界的な臨床応用への動き

一方、世界に目を向けると臨床応用に向けた研究開発は活発に進んでいます。乳がん治療の例で、トラスツズマブというHER2遺伝子変異陽性の患者によく効く薬がありますが、すべてのHER2陽性患者に効くわけではないのです。調べると、HER2陽性で薬が効かない患者は血液中にHER2の分子を持ったエクソソームが存在することがわかりました。中和抗体であるトラスツズマブとHER2の分子を持つエクソソームが血液中で出会い、薬の機能が失われ、乳がんを攻撃できなくなったのです。この発見をもとに、HER2陽性でトラスツズマブが効かなかった患者の血液からHER2陽性のエクソソームを特殊な膜⁷⁾で除去すると薬が効いたのです。悪いエクソソームを除去することも、今後のがん抑制のアプローチになりそうです。

さらに、間葉系幹細胞が分泌するエクソソームを使った治療も開発され、臨床試験が始まっています。最近、骨髄や脂肪組織、胎盤・臍帯に存在する間葉系幹細胞の分泌するエクソソーム自体が非常に大きな治癒能力を持っているということがわかってきました。我々も今年の日本再生医療学会で発表しニュースにもなりましたが、脂肪の間葉系幹細胞をがん疾患の動物に投与すると治癒能力が上がり、エクソソームの分泌を止めた細胞をがん疾患のマウスに投与すると、今まで見られていた治癒能力が激減したのです。世界中で臨床研究が進んでいる間葉系幹細胞による疾患治療で、ひざ関節の炎症を抑えたり心筋梗塞を改善するという作用は、エクソソームによるものだとということがわかってきました。

昨年10月にシンガポールで行われたミーティングでは、Dr. Sai-Kiang Limが進めている、間葉系幹細胞のエクソソームを



図：エクソソームの概念図

6) Kosaka N et al. Silence. 2010 Mar 1;1(1):7.

7) Aethlon Medical社が開発したHER2osome™

使った第Ⅱ相臨床試験の発表があり、心筋梗塞などの治療に有用である可能性が示されました。これに注目する世界中の研究者や、治療をどう承認するのか、エクソソームをどのように品質管理するかというレギュラトリーサイエンス関係の人たちも加わって3日間にわたり議論が行われました。FDAのメンバーも関わっていたことは注目です。腎臓の障害にも効果があり、抗がん作用もありうるということも最近わかってきたため、エクソソームだけを用いた再生医療が世界で実現に向けてスタートしています。

エクソソームと生命現象

エクソソームは、これまでにわかっている働きのほか、私たちの生命活動を維持するためのさらに根源的な機能を担っている可能性があります。実態はまだわかりませんが、炎症や細胞傷害の治療、いわゆる自然治癒能力がエクソソームによって説明できるかもしれません。例えば、自分の子供が転んだのを見たお母さんはとたんに唾液が出て、それを子供の傷につけるとよくなるという現象は、唾液中の抗菌作用を持つ物質によるものですが、実際には唾液の中のエクソソーム、その中のmiRNAが関与している可能性があります。このように、身近に日常で起こることがエクソソームで説明できるようになるかもしれません。

我々にはさらに大きなテーマがあり、遺伝情報の水平伝達にエクソソームが関わり、進化にも関与しているのではないかと考えています。進化、遺伝情報は親から子へ垂直に伝わるのが基本ですが、異なる生物間で種を超えて遺伝情報が交換された事実が報告されています。エクソソームの中に遺伝情報を詰め込むことにより、遺伝情報の水平伝達が行われている可能性が考えられます。エクソソームを知ることによって、単に疾患の診断や治療だけでなくもっと生命の進化に対する理解を深めることにつながるものと期待しています。

エクソソームの多分野的な展開

工学系の研究者たちも、エクソソームを測定するシステムや方法の開発に関心を持っています。エクソソームは非常にヘテロ（不均一）な集団で、個々のエクソソームに分離するには超遠心を使う今の方法では十分ではありません。それを解決するために日本の工学・光学含め様々な分野の技術応用が期待されます。例えば光学や音響の国内企業が医療機器分野でソフトウェアを開発しているので、その技術を用いてエクソソーム分析装置を開発できるかもしれません。また、特殊な機能を持つメンブレン（膜）の技術を持つ企業も多くあるので、メンブレンで悪いエクソソームを除去したり、特殊な薬剤を付加して悪いエクソソームを破壊したり、という新しい医療のアプローチができるかもしれません。

化粧品や食品の業界でもエクソソームの研究は進められています。例えば、世界中の数多くの人工乳のメーカーが成分を研究して作っても母乳にかなわないのは、miRNAが欠けているからではないかと考えられており、前述の私たちの発見を生かしてより完全な人工乳を作る取り組みが続けられています。

エクソソームは基礎研究者だけの研究分野にとどまらず、生物学や医療以外の多様な分野も関わる、産業的にもインパクトが大きく注目度が高いテーマです。涙にもある、血液にもあるエクソソームが、なぜ存在しているのか、何をしているのか、どんな医療、産業に応用できるのか、ということを考えてみると興味は尽きません。また、競争が激化する世界の中で日本が先陣を切るためには、研究や開発に国の支援が行われることやレギュラトリーサイエンス面の議論が十分行われることも重要なことです。質の高い生活を送り天寿を全うできるように、ヘルスケア産業が正しい方向に発展するためにも、エクソソームの研究が多面で進むことに期待をしています。



おちや たかひろ
落谷 孝広 主任分野長

大阪大学大学院博士課程修了（医学博士）。大阪大学細胞工学センター文部教官助手、米ラホヤがん研究所（現 SF バーナム医学研究所）ポストドクトラルフェロー（神経分化を研究）、国立がんセンター研究所主任研究員、同分子腫瘍学部室長、がん転移研究室独立室長を経て、現在は国立がん研究センター研究所分子細胞治療研究分野 主任分野長、早稲田大学客員教授、東京工業大学客員教授、星薬科大学客員教授、昭和大学歯学部客員教授を兼任。日本癌学会評議員、日本RNAi研究会運営委員、JSEV（日本エクソソーム協会）の会長、エクソソーム国際協会のオフィシャルジャーナル JEV の Associate Editor、Cancer Science の Associate Editor や ISSCR アドバイザーなどの学会・研究会の役員も努める。

インタビューを終えて

落谷先生のお話に引き込まれない人はいないでしょう。素人の私にもイメージできるよう分かりやすく話していただき、鳥肌が立つほど興奮しました。インタビューさせていただいたことを光栄に思います。医療分野はもちろんのこと、様々な分野で発展していくであろう miRNA やエクソソームにはとても興味をそそられました。

科学誌 *Science* に論文が掲載された日本人著者に、論文の内容、普段の研究内容についてわかりやすく解説していただきました。



マウスの精子形成と生殖に必要な Y 染色体の代わりとなる 2 遺伝子

Two genes substitute for the mouse Y chromosome for spermatogenesis and reproduction

Science 29 January 2016: Vol. 351 no.6271

● 今回の論文についての解説をお願いします。

Y 染色体はオスであることのシンボルで、雄性生殖に重要な遺伝子をコードしていますが、今回の研究では Y 染色体をまったく持たないオスのマウスを作出し、このマウスの円形精子細胞から産仔作出に成功しました。



Institute for Biogenesis Research,
John A. Burns School of Medicine,
University of Hawaii
山内 康弘 博士研究員



Monika A. Ward 教授

Y 染色体上の遺伝子

ほとんどの哺乳動物の性別は性染色体の組み合わせによって決まります。メスは X と X、オスは X と Y 染色体を持ち、Y 染色体上には「オスになる」ことを決定する *Sry* (Sex-determining region Y) 遺伝子が存在します。以前は、哺乳動物の Y 染色体には雌雄を決定する *Sry* のほかには重要な遺伝子はないと考えられてきました。しかし現在では、ヒトやマウスにおいて Y 染色体の異常や欠失が男性不妊の原因となることがわかり、Y 染色体上には *Sry* のほかに、精子形成や精子の受精能力といった雄性生殖にとって重要な遺伝子が多数存在することが明らかになっています。また、オスになることに Y 染色体遺伝子のすべてが必要なわけではないことが知られていますが、個々の遺伝子の機能やどの遺伝子が必要なのかについては明らかになっていません。

マウスの必須 Y 染色体遺伝子は?

我々は 2 年前に、Y 染色体遺伝子を *Sry* と *Eif2s3y* の 2 つしか持たないオスのマウスの円形精子細胞 (精子になる前の細胞) から生殖補助技術によって産仔を得ることに成功しました。このマウスは外見上オスとして生まれるものの、精巣内では精子形成が途中停止するため、完全な精子を生産することができません。このようなマウスでも生殖補助技術を用いれば子孫を残すこと (父親になること) ができるのです。

今回の研究では、*Sry* と *Eif2s3y* をほかの遺伝子に置き換えたオスのマウスを作出し、そのマウスの円形精子細胞から産仔を得ることに成功しました。*Sry* を常染色体上に存在する *Sox9* 遺伝子に置き換え、*Eif2s3y* を X 染色体上の相同遺伝子 *Eif2s3x* に置き換えたマウスは Y 染色体遺伝子をまったく持たないオスとなります。本研究により、生殖補助技術を用いた場合、マウスにおいては Y 染色体の生殖機能への関与は必須ではないことが明らかとなりました。この研究成果は Y 染色体遺伝子の機能と進化についての新しい見識を

もたらし、Y 染色体遺伝子とほかの染色体上の相同遺伝子との間に遺伝情報の代理機能 (バックアップ機能) が存在することを裏付けています。自然界にはすでに Y 染色体を持たないネズミが生息していることを考えると、この代理機能は環境変化などの状況に応じて発現することができるのかもしれませんが。

研究の現場

私の働く生物発生学研究所はハワイ大学マノア校内に位置しています。私の所属する Monika Ward ラボには私を含む 2 人のポスドク、3 人の大学院生、3 人のボランティア学部生がいます。週 1 回のラボミーティングでは研究成果の発表や論文の紹介を行いますが、Monika のフレンドリーな人柄と少人数のラボということもあり、実験についてのディスカッションはいつでも気軽に行えます。常夏のハワイという恵まれた環境で働けることに感謝しながら日々の研究に励んでいます。



■ サイエンス日本語版ホームページ

サイエンス日本語版ホームページがリニューアルされ、さらに使いやすいデザインとなりました。*Science* 等に掲載された最新の研究論文へ簡単にアクセスできます。メールマガジンの登録もこちらから! www.sciencemag.jp

ASCA は、*Science* を発行する米国科学振興協会 (AAAS) からの委託を受け、Science Japan Customer Service Office としてカスタマーサービスを担当しています。