

# 新規膜タンパクA陽性エクソソームによる肉腫の超早期診断法の確立

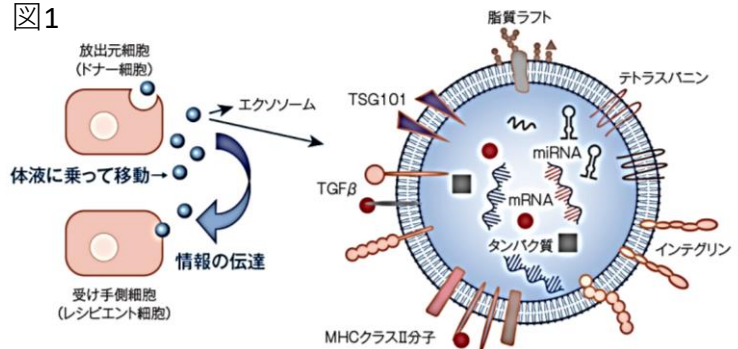
医学系部門 整形外科学 田中 太晶

高悪性度肉腫の治療成績は悪く、約40%の症例は肺転移をきたし予後不良の経過をとる。したがって再発・転移の早期診断ツールの開発は肉腫の治療成績の向上に重要である。近年、癌患者の末梢血中の“エクソソーム”と呼ばれる細胞外小胞の存在が注目されている。(図1) 癌細胞から分泌されたエクソソームにはタンパクや核酸が内包されており、周辺細胞や遠隔の臓器へと移行することでシグナルを伝達し、がんの進展に重要な働きをする。我々は、膜タンパクAが、肉腫細胞で特異的に発現することを見だし、エクソソーム膜にも高濃度で存在することを確認した。本研究では、肉腫再発・転移の早期発見を目指して、膜タンパクA陽性エクソソームを測定するためのイムノアッセイ法を確立することが目的である。

## エクソソームとは？

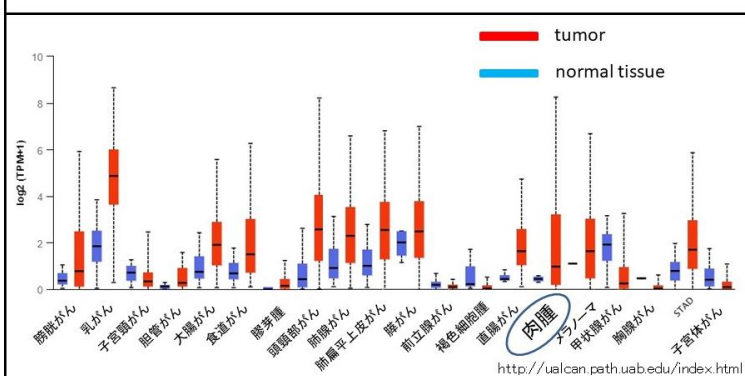
- 細胞外小胞
- 直径30-150nm
- タンパク、核酸を内包
- 膜タンパクが、標的細胞の選択・取り込みに関与している
- 血液、尿、唾液、母乳など体液中に含まれる

図1

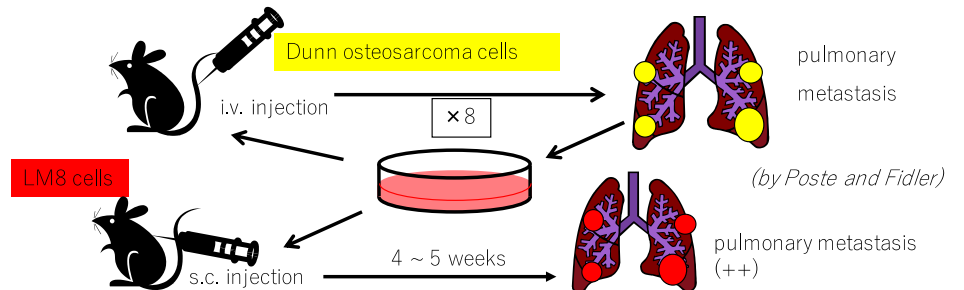


我々は、以前マウス骨肉腫高肺転移株LM8とその親株であるDunn骨肉腫細胞株の網羅的遺伝子発現解析を行いLM8に高発現する分子量約64kDaの膜タンパクAを同定した。がんのOMICSデータベースであるUALCANで種々のがん腫における膜タンパクAの発現量を検索したところ、肉腫だけでなく乳がん、大腸がんなど多くのがんで発現上昇していることがわかった。(図2) さらに、エクソソームのプロテオミクス解析で、LM8での膜タンパクA陽性エクソソームの発現量はDunn骨肉腫細胞株よりも100倍高発現していることも確認している。以上のことから、膜タンパクA陽性エクソソームは、肉腫の腫瘍マーカーになり得ると考え、アッセイ系の確立を行う。

図2 各種“がん”における膜タンパクAの発現



マウス骨肉腫細胞株DunnとLM8



アッセイ系の確立：骨肉腫細胞株から膜タンパクA陽性エクソソームが分泌されているので、培養上清や患者検体を用いてアッセイ系を確立する(図3)。なお、必要となるnativeな膜タンパクAを認識できる抗体は市販されていないが、膜タンパクA陽性エクソソームを補足できる、マウスモノクローナル抗膜タンパクA抗体は作成済みであり、共同研究者である株式会社ハカレルを通じて成果の事業化を図る予定。

番号	診断名	蛋白質 (pg/mL)
M1	悪性線維性組織球腫	32105.2
M2	脂肪肉腫	2333.2
M3	腎がん	5490.1
M4	顎上皮肉腫	922.9
M5	悪性末梢神経鞘腫瘍	1286.0
M6	脂肪肉腫	6500.8
M7	脂肪肉腫	1557.1
M8	脂肪肉腫	932.5
M9	脂肪肉腫	2271.1
M10	骨肉腫	1304.5
M11	脂肪肉腫	13934.1
M12	悪性線維性組織球腫	3029.1
M13	脂肪肉腫	1887.2
M14	骨肉腫	3950.3
M15	骨肉腫	1675.3
M16	骨肉腫	2306.6
M17	悪性線維性組織球腫	4263.6
M18	脂肪肉腫	1488.5
M19	脂肪肉腫	2181.9
M20	骨肉腫	55.4
M21	脂肪肉腫	1765.7
B1	脂肪肉腫	1779.1
B2	脂肪肉腫	1493.2
B3	脂肪肉腫	228.1
B4	脂肪肉腫	3763.0
B5	脂肪肉腫	840.6
B6	脂肪肉腫	762.1
B7	脂肪肉腫	1765.7
B8	脂肪肉腫	4167.9
B9	脂肪肉腫	2814.1
C1	脂肪肉腫	3876.2
C2	悪性末梢神経鞘腫瘍	1117.8
C3	脂肪肉腫	1216.1
C4	脂肪肉腫	2079.7
C5	脂肪肉腫	1994.8
C6	脂肪肉腫	8753.6
M27	肉腫	1542.2
M28	脂肪肉腫	2284.4
M29	脂肪肉腫	2230.4
M30	脂肪肉腫	3102.4
M31	脂肪肉腫	977.4
M32	骨肉腫	1113.3
M33	低悪性度線維性肉腫	1373.4
M34	未分化多型肉腫	2209.6
M35	骨肉腫	6363.6
B1	脂肪肉腫	3421.0
B2	脂肪肉腫	3771.1
B3	脂肪肉腫	1582.2
B4	脂肪肉腫	824.0
B5	脂肪肉腫	2330.0
B6	脂肪肉腫	1604.1
B7	脂肪肉腫	1704.4
B8	脂肪肉腫	1414.0
B9	脂肪肉腫	214.3
C1	脂肪肉腫	3489.5
C2	脂肪肉腫	779.8
C3	脂肪肉腫	701.6
C4	脂肪肉腫	1328.6
C5	脂肪肉腫	3727.1
C6	脂肪肉腫	2597.1
M21	骨肉腫	1542.2
M22	骨肉腫	2284.4
M23	骨肉腫	2230.4
M24	骨肉腫	3102.4
M25	骨肉腫	977.4
M26	骨肉腫	1113.3
M27	骨肉腫	1373.4
M28	骨肉腫	2209.6
M29	骨肉腫	6363.6
M30	骨肉腫	3421.0
M31	骨肉腫	3771.1
M32	骨肉腫	1582.2
M33	骨肉腫	824.0
M34	骨肉腫	2330.0
M35	骨肉腫	1604.1
B1	骨肉腫	1704.4
B2	骨肉腫	1414.0
B3	骨肉腫	214.3
B4	骨肉腫	3489.5
B5	骨肉腫	779.8
B6	骨肉腫	701.6
B7	骨肉腫	1328.6
B8	骨肉腫	3727.1
B9	骨肉腫	2597.1
C1	骨肉腫	3549.1
C2	骨肉腫	972.6
C3	骨肉腫	1159.7
C4	骨肉腫	2151.1
C5	骨肉腫	1799.4
C6	骨肉腫	8663.6

図3 エクソソーム膜上のタンパクAの検出方法

