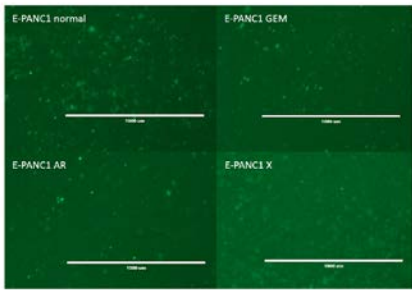
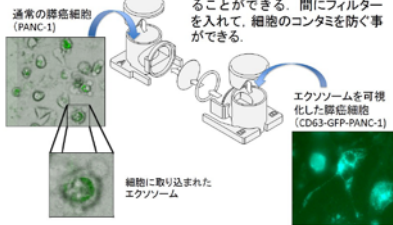


平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		膵がんエクソソームと GSK3 β の交絡的病理作用の解明とがん治療薬スクリーニングへの応用
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢医科大学総合医学研究所・准教授・島崎猛夫
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢医科大学総合医学研究所・教授・石垣靖人
	所属・職名・氏名	金沢医科大学総合医学研究所・研究員・辰野貴則
受入担当教員	職名・氏名	教授・源利成
【研究目的】	これまでの共同研究により我々は、glycogen synthase kinase (GSK) 3βが消化器癌に共通する治療標的であることを提唱してきている。また近年、癌細胞が分泌するエクソソーム(exosome) が癌の転移において重要な役割を担っている可能性が示唆されている。なかでも膵癌は強度の浸潤、転移性と各種治療に抵抗する難治癌であるため、我々が樹立したエクソソーム可視化膵癌細胞株と新たに開発した連結式培養プレート(NICO-1)を用いて、エクソソームの動態及びエクソソームが周囲の細胞に与える影響と、GSK3βを含む各種キナーゼの阻害薬等の影響について検討することを目的とした。	
【研究内容・成果】	 NICO-1: New Intercellular communication observation tool 特徴: 上清を共有しながら細胞を培養でき、両者を同時に観察することができる。間にフィルターを入れて、細胞のコンタミを防ぐ事ができる。  エクソソームの合成・分泌機構については、まだ初期段階にあり、十分には分子機構が理解されていない。今までに、種々の細胞膜小胞形成に関わる endosomal-sorting complex required for transport (ESCRT) を形成する一連の分子群 (Raiborg C, et al, Nature 2009) や、エクソソームの膜成分であるセラミド合成の律速酵素 neutral sphingomyelinase 2 (Trajkovic K et al. Science 2008)、細胞内の膜小胞輸送に関わる Rab GTPase ファミリー分子群 (Ostrowski M, et al. Nat Cell Biol 2010)、ヘパラン硫酸分解酵素である heparanase (Thompson CA et al. J Biol Chem 2013) などの分子が同定されている程度である。そこで我々は、e-PANCI を用いて、まず各種薬剤投与下でのエクソソームの動態について観察を行った。その結果、薬剤非投与化と比較して、5FU などの薬剤投与状態ではエクソソームの動きが活発となった。一方、GSK3β阻害剤 (AR-A014418) 投与下ではエクソソームの動きがほとんどみられない状態となったことから、エクソソームの動態に関係する分子と GSK3β の関与が示唆された。また、GSK3β阻害剤投与下では、エクソソームの形成数が低下したことから、エクソソームの形成にも影響する可能性が示唆された。つぎに、薬剤スクリーニングの過程で、ある薬剤 X の投与時によりエクソソーム顆粒が消失し、細胞内にびまん性に GFP が分布したことから、薬剤 X はエクソソームの形成維持過程と密接に関係していることが示唆された (図上)。また、NICO-1 を用いた実験では、エクソソームがフィルターを通り抜けて細胞内に取り込まれる状況を観察することができた (図下)。今後、これらの結果をもとにさらなる分子機構を解析する。	
【成果等】	【主な論文発表】	なし (論文作成準備中)
	【学会発表】	なし (2015 年度に予定)
	【その他特筆事項】	なし