

【目的】我々は、Epstein-Barr ウィルス (EBV) 感染による B 細胞性悪性リンパ腫の発症に関連して、EBV 由来小分子 RNA が細胞外小胞エクソソームを介してマクロファージ特異的に取り込まれることがリンパ腫悪性の鍵となることを明らかにした。しかし、この内容物の輸送だけで腫瘍悪性化機構の全てを説明しきれないという課題が残ったことから、エクソソーム膜を構成するリン脂質 (PL) に着目し解析を行ったところ、腫瘍由来エクソソームの独特な膜 PL 組成が明らかとなった。この知見から、「エクソソーム膜状の PL が脂質メディエーターの供給源になるのではないか」という仮説を考えた。脂質メディエーターにはプロスタグランジン等強力な生理活性を持つ物質が多いため、我々はその産生に関与するリン脂質分解酵素、分泌性ホスホリパーゼ A2 (sPLA₂) に着目し、エクソソームとの反応性を検証した。その結果、エクソソームが sPLA₂ の基質となることが明らかとなり、その新たな機能の存在が示唆された。そこで本研究では、癌におけるエクソソーム膜の PL の生物学的意義のさらなる解明に迫ることを目的とした。

【方法】sPLA₂処理を行ったエクソソームを用いて以下の実験を行った。1. クライオ電顕による観察：東京大学の共用設備を利用し sPLA₂処理後エクソソームの観察を行った。2. 取り込み速度変化の観察：THP-1 細胞株に標識エクソソームを添加し取り込みの様子を FACS と共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。3. sPLA₂処理中にエクソソーム上で産生されるメディエーターの同定：質量分析にて酸化脂肪酸の検出を酵素処理前後で行い比較した。4. エクソソームから遊離したメディエーターの検出：sPLA₂処理後に限外濾過フィルターを用いてエクソソームと sPLA₂により遊離したものとに分画し質量分析にてそれぞれに含まれる脂質を検出した。5. GPCR の活性化：AP-TGF α を THP-1、Jurkat 細胞に発現させ、エクソソームを添加後、その活性の変化をアルカリホスファターゼ活性値として検出した。6. *In vivo* でのフェノタイプ検出：健康マウスに複数回エクソソームを投与し、更に炎症を誘発させたときの変化を ELISA や組織学的手法にて解析した。

【結果】1. クライオ電顕による観察：粒子径の縮小だけでなく膜構造の変化や連鎖形成などエクソソームの様々な形態変化が観察された。2. 取り込み速度変化の観察：sPLA₂処理エクソソームにて取り込み速度の劇的な亢進が観測された。3. sPLA₂処理中にエクソソーム上で産生されるメディエーターの同定：強力な免疫抑制性メディエーターであるレゾルビン D₂ (RvD₂) が On site で合成されている可能性が示唆され、さらにこれが取り込み促進に寄与するという側面も明らかとなった。4. エクソソームから遊離したメディエーターの検出：sPLA₂処理を行うと多くの脂肪酸やリゾリン脂質、脂質メディエーターが細胞外環境に遊離することが明らかとなった。5. GPCR の活性化：sPLA₂処理エクソソームが細胞膜上の GPCR を著しく活性化させることが明らかとなった。6. *In vivo* でのフェノタイプ検出：sPLA₂ エクソソームが免疫抑制型フェノタイプを劇的に誘導することが明らかとなった。

EBV 関連癌におけるエクソソームの新機能

