

研究 成果 報告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	Epstein-Barr ウイルス関連がん発症におけるエクソソームの機能解析				
研究テーマ (欧文) AZ	Characterization of the role of exosomes in Epstein-Barr virus-associated tumors				
研究氏 代 表 名 者	カナナ CC	姓)ナンボ	名)アスカ	研究期間 B	2014 ~ 2016年
	漢字 CB	南保	明日香	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	Nanbo	Asuka	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	北海道大学大学院医学研究科・准教授				
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 【目的】 ヒトγヘルペスウイルスに属する普遍的な 2 本鎖 DNA ウイルスである Epstein-Barr ウイルス(EBV)は、種々のがんに関連する。本研究では、EBV 感染細胞から放出されるエクソソームに内包される細胞および EBV 由来 miRNA を同定し、これらの役割を解明することを目的として検証を行った。 EBV 潜伏感染には、I 型、II 型、III 型の 3 種が存在し、それぞれ特異的なウイルス遺伝子発現パターンを示す。本研究では、エクソソーム産生細胞として、同一のバーキットリンパ腫患者から単離した 3 種の細胞株、すなわち、EBV ゲノムが脱落した EBV 陰性 Mutu-細胞株、I 型および III 型潜伏感染 Mutu 細胞株(それぞれ、Mutu I、Mutu III)を用いた。これらの細胞株について培養上清のエクソソームを単離し[exosome (I), (III), (-)], 以下の解析を試みた。 【方法・結果】 1. 各種エクソソームに内包される miRNA の同定 エクソソームから small RNA を単離し、次世代シーケンスを行った。約半数の small RNA がデータベースによってアノテートされ、exosome (-)および(I)については約 20%が、exosome (III)については約 6%が既知の miRNA として同定された。また、exosome (-)については、EBV 由来 miRNA は同定されず、exosome (I)および(III)については約 5%が EBV 由来 miRNA であることが示された。 2. 各種エクソソーム間での miRNA の比較 次に、各種エクソソーム間で miRNA の比較を行った。上位 20 について検討した結果、全てのエクソソームに共通する 12 種の細胞由来 miRNA が認められた。また exosome (-)および(I)に共通する 6 種類の細胞由来 miRNA が認められた。一方、3 種の EBV 由来 miRNA を含む特異的な miRNA が exosome (III)に内包されることが明らかになった。 3. EBV 感染がエクソソーム産生に与える影響 Mutu 細胞間でエクソソーム産生量について比較した結果、Mutu III においてエクソソーム産生のある多胞体の形成、またエクソソーム産生が増強していた。この現象に責任遺伝子として、EBV がコードするがん遺伝子 LMP1 に着目して検討を行った。Mutu-に LMP1 を強制発現させた結果、多胞体形成が増強した。一方、siRNA を用いて Mutu III の LMP1 発現をノックダウンした結果、多胞体形成が抑制された。 【考察】 現時点において、EBV 関連がん発症におけるエクソソームの役割については未知であり、さらに、EBV 関連がんに関する有効なバイオマーカーならびに治療法は未開発である。 従って、本研究を展開することで、EBV 関連がん発症機構の理解に貢献することに加えて、研究代表者が同定した感染細胞由来エクソソームに内包される特異的 miRNA について、新規バイオマーカーの有用性を検討することで、EBV 関連リンパ腫の診断法の開発へと展開する可能性が期待される。 * 現在論文投稿準備中					
キーワード FA	Epstein-Barr ウイルス	エクソソーム	マイクロ RNA	がん	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	現在論文投稿準備中							
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	—	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	—	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	—	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

[Background]

Epstein–Barr virus (EBV), a human gamma herpesvirus, has been implicated as a cause of lymphomas (e.g. Burkitt’s lymphoma) and epithelial malignancies. In present study we identified host and EBV micro RNAs (miRNAs) that are incorporated into the exosomes to further elucidate the roles of exosomes derived from EBV-infected cells in viral life cycle.

[Methods]

In this study, we isolated the exosomes released from three B cell lines originated from the identical Burkitt’s lymphoma; EBV-negative Mutu- cell line, type I and III latently infected Mutu I and Mutu III.

We performed deep sequencing by using illumina Miseq platform to identify micro RNAs (miRNAs) incorporated in the exosomes. We also examined the formation of multi-vesicular bodies (MVBs), an organelle that involves in the biogenesis of exosomes, and efficiency of exosome production from the cells by immunofluorescent staining protein assay and western blot, respectively.

[Results]

Deep sequencing revealed that some specific host and viral miRNA incorporated into the exosomes derived from EBV-infected cells, in particular in type III latency. We also observed that type III latency promoted MVB formation and secretion of exosomes. Moreover, an EBV-encoded oncogene, LMP1 was identified as one of responsible genes for up-regulation of exosome biogenesis.

[Conclusion]

Our findings indicate that type III latency significantly modulate the exosome biogenesis and incorporation of exosomal miRNAs, which may contribute to the phenotypic modifications in the recipient cells through transferring specific miRNAs. The role of exosomes derived from EBV-infected cells in EBV life cycle has been under investigation.