

学生優秀発表賞受賞者：熊木優喜 演題番号 学 04

Epstein-Barr ウイルス (EBV) 陽性 T 細胞株における エクソソーム分泌の検討

熊木 優喜*¹ 大橋 彩香*² 吉 森 真由美*³
西尾 美和子*^{1§} 新井 文子*^{3,4}

I. 研究の概要

【背景と目的】

EB ウイルス (EBV) は本邦では 90 % 以上のヒトが成人するまでに感染し、生涯 B 細胞に潜伏感染するが、免疫能が低下すると再活性化し B 細胞リンパ腫発症の原因となることがある。潜伏感染状態では限られたタンパク質のみが発現する一方で、ウイルスのコードするマイクロ RNA (miRNA) 群は非常に高いレベルで発現することが知られている。EBV 陽性 B 細胞リンパ腫において、EBV 由来 miRNA はエクソソームに包まれて感染細胞から分泌され、腫瘍化に関与することが報告されている。近年一部の T 細胞腫瘍にも EBV ゲノムを認めることが明らかになった。

本研究では、EBV 陽性 T 細胞リンパ腫において miR-BARTs のエクソソームからの分泌が発症に何らかの重要な役割をすると考え、EBV 陽性 T 細胞株からのエクソソーム分泌および、内包される miR-BARTs の発現を確認することを目的とした。

【方 法】

EBV 陽性 T 細胞株である SNT15 および SNT16 の細胞上清からエクソソームを分離するため、超

遠心分離法 (100,000 × g · 90 分 × 2 回、4℃ 条件下) を行った。その後ナノ粒子解析システム (NanoSight) とウエスタンブロット法を用いてエクソソームの分離を確認した。

分離したエクソソームから ISOGEN II を用いて RNA を抽出した。特異的なプライマーを用いた Taqman 法によって cDNA の合成および定量 PCR 法を行い、エクソソーム由来 miR-BART1-5p の発現を解析した。

【結 果】

ナノ粒子解析システムで SNT15 と SNT16 の細胞上清から分離したエクソソームを確認したところ、いずれの細胞株でもエクソソーム分画を示す 50 ~ 200 nm にピークが検出された。また定量 PCR 法によって、エクソソーム中の miR-BART1-5p の発現が確認できた。また分離したエクソソームを用いてウエスタンブロット法を行ったところ、エクソソームマーカーである Alix および CD63 の発現が確認された。

【結 語】

本研究から EBV 陽性 T 細胞株におけるエクソソームの分泌、および miR-BARTs の発現が確認された。このことから EBV 陽性 T 細胞腫瘍において、エクソソームから分泌される miR-BARTs

*¹ 東京医科歯科大学 先端血液検査学 §mnishio.lmg@tmd.ac.jp、*² 東京医科歯科大学 免疫病態検査学

*³ 東京医科歯科大学 血液疾患治療開発学、*⁴ 聖マリアンナ医科大学 血液・腫瘍内科

が疾患の発症などに関与していることが示唆され、EBVによるT細胞腫瘍の発症機構の解明と治療法に結び付くことが期待される。

II. 受賞の感想

この度は第14回日本臨床検査学教育学会学術大会 優秀発表賞を頂きまして、心より感謝申し上げます。実は私にとって初めての学会（研究）発表でした。そのため当日は自分の発表が近づくにつれて、時間内に発表できるのか、緊張せずゆっくり話せるのだろうか、どんな質問をされるのだろうか、それにちゃんと答えられるのだろうかと不安と緊張でいっぱいでした。しかしそんな緊張も自分の番がやってくる頃にはほとんど収まり、発表はほどよい緊張感の中で無事に終わることができました。

自分の研究内容を学会発表という形でアウトプットしたことで、幾つか学んだことがあります。まず第一に、学会発表は自分の研究内容を多くの人に伝え、知ってもらっただけでなく、自分の研究に対する理解を深める良い機会だと知りました。実際、質疑応答の対策として様々な文献を読みました。そのためか、以前よりも自身の研究に対す

る知識や理解が深まったと感じています。第二に、質疑応答を通じて、自分の研究を違う角度で見つめる良い機会を得ました。学会には様々な知識や視点をもった人が集まっており、自分にはない発想やものの見方を知ることで、研究をより充実し発展できる可能性を感じました。

貴重な学会発表をさせて頂いたことで、知識や見聞を深めることができた実感しています。また受賞できたことは自分にとって大きな自信と励みになり、とても嬉しく思います。ご指導頂いた先生方や助言頂いた研究室メンバーのご協力があったの受賞だと強く思います。この場をお借りして深く感謝申し上げます。

III. 将来への抱負

来年度、大学院へ進学します。慢性活動性EBウイルス感染症（CAEBV）の発症メカニズムはほとんど明らかになっていません。さらなる基礎研究が必要であり、今回の学会発表はその最初の小さな一歩にすぎません。大学院でも本研究を続け、CAEBV発症メカニズムの解明に貢献したいと思っています。