

研究タイトル 牛乳に含まれる細胞外小胞をヒト細胞が認識し応答する分子機構の解明
研究者名（所属先） 曾宮正晴（大阪大学・産業科学研究所）
【目的】 牛乳には細胞外小胞（extracellular vesicle, EV）と呼ばれる細胞由来の膜小胞が豊富に含まれている。本研究はこれら牛乳中 EV をヒト細胞が認識して応答する分子メカニズムを明らかにすることを目指し、牛乳由来 EV を添加した際の細胞内シグナル誘導を検証した。
【方法】 市販の無脂肪牛乳から、既報に従って EV を精製した（Somiya et al., J. Extracell. Vesicle, 2018）。CHO-K1、HEK293、HeLa 細胞にカルシウム指示薬を導入し、牛乳由来 EV を添加して細胞内カルシウムシグナルの活性化を評価した。EV のモデルとして、リポソームを調製して同様の実験を実施した。牛乳 EV によって活性化する受容体の同定には、PRESTO-Tango 法を使用した（Kroeze et al., Nat. Struct. Mol. Biol., 2015）。
【結果】 牛乳由来 EV を CHO-K1 細胞に添加すると、30 秒以内に細胞内のカルシウム濃度の上昇が見られた。同じ現象は、リポソームを添加した細胞においても確認できた。また、複数のヒト細胞株（HEK293 や HeLa など）においてもカルシウムの応答が見られた。G α q の特異的阻害剤である YM-254890 で細胞を処理すると、リポソームによる細胞内カルシウム濃度の上昇が著しく阻害された。以上の結果より、リポソームおよび EV は、GPCR- G α q 経路を活性化して、ER からカルシウムを放出させている事がわかった。EV/リポソームの脂質成分を認識して活性化するヒト GPCR を同定するため、PRESTO-Tango 法で HEK293T 細胞に 314 種類の GPCR を発現させてリポソームで刺激した結果、20 種類以上の GPCR において応答を確認した。
【結論】 牛乳由来 EV はヒト細胞表面に存在する GPCR に結合することで細胞内カルシウムシグナルを活性化することが判明した。これは牛乳に含まれている EV の新たな生理活性の存在を示唆するものと考えられる。