



血液内のエクソソームをバイオマーカーとしたがん診断法の開発

～がんの有無の判別や種類の特定に有効、がん診断への貢献に期待～

【要点】

- 様々なヒト組織由来のエクソソームに共通するエクソソームマーカーを解明
- ヒト血漿由来エクソソームを用いたがんの有無を判別するタンパク質パネルを報告。これを用いてがんの種類の特特定が可能であることを併せて証明

【概要】

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系の星野歩子准教授らは、コーネル大学をはじめとする研究機関と共に、広範囲に渡るヒトのエクソソームに共通する「エクソソームマーカー」を発見し、これを用いてがん種を特定することが可能であることを明らかにした。

エクソソームは全ての細胞から産生される微小胞である。エクソソームには細胞由来のタンパク質、核酸、脂質など多様な情報が含まれていることから、様々な疾患を反映した**バイオマーカー**（用語説明1）としての期待が高まっている。

今回の研究では、426のヒト由来サンプルの分析から、様々な組織（血漿、血清、手術組織等）でエクソソーム全てに共通する「エクソソームマーカー」の候補を見つけることに成功した。また機械学習によって、エクソソームを用いてがんの有無が判定できること、さらにすべてのステージにおいてがんの種類を特定できることを確認した。さらに、がんの判別やがんの種類の特特定に用いることができる**エクソソーム含有タンパク質パネル**（用語説明2）には、がん細胞が直接産生するエクソソームだけでなく、その他の“正常細胞”から得られるメッセージが有力であることが分かった。

この成果から、エクソソームを用いたバイオマーカーでは、がんの足跡だけを追いかけるのではなく、がん種別に体全体で起きている変化をバーコードのようにスキャンすることが期待できる。将来的には、がん診断の精度向上にもつながる重要な成果だといえる。

研究成果は2020年8月13日（米国東部時間）に米国科学誌「*Cell*（セル）」オンライン速報版で公開された。

●背景と研究の経緯

エクソソームは、全ての細胞から産生される 50-150 nm サイズの微粒子であり、1 ml の血液中に数百億個から数兆個のエクソソームが流れている。従来は細胞の不要物を処理する機構と考えられてきた。しかし近年、エクソソームが産生細胞から別の細胞へ取り込まれることが明らかになり、新たな細胞間コミュニケーションツールとして注目を浴びている。

研究グループはこれまでに、肺・肝臓・脳において、がん細胞が産生するエクソソームが、がんの未来転移先へ事前に到達してその臓器内細胞へ取り込まれることで、がん細胞が転移しやすい環境を作っていることを証明してきた^[参考文献 1,2]。また、がん細胞由来エクソソームには、特定のタンパク質（肺・肝臓では特定のインテグリン（用語説明 3）、脳では **CEMIP**（用語説明 4））が選択的に含まれており、それらが「郵便番号」のような役割をすることで、エクソソームの臓器特異的な分布を規定していることを明らかにした。さらに、がん患者の血中エクソソームの **ELISA 解析**（用語説明 5）を行うと、肺や肝臓転移があった患者の血中エクソソームでは特定のインテグリンが上昇していることが分かった。すなわち、がん患者の血中にはがん細胞由来のエクソソームが流れていることになる（図 1）。こうした背景から、血中エクソソームのタンパク質を元にしたがん診断マーカーの開発が期待されており、この観点から今回の研究を行った。

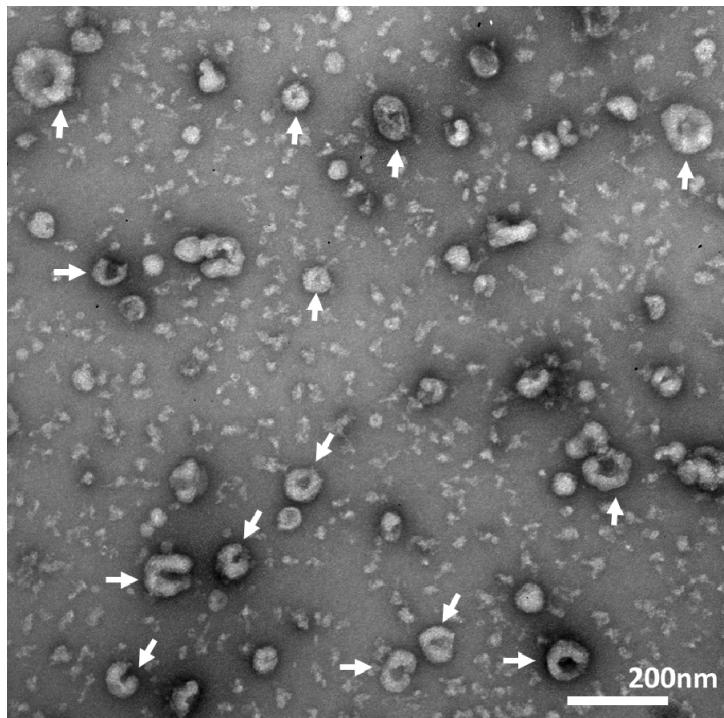


図 1 エクソソームの電子顕微鏡写真

血液中には全ての細胞が産生するエクソソームが大量に含まれ、脂質二重膜構造であるため、ドーナツ型に見える。

●研究成果

研究グループは、エクソソーム含有タンパク質に注目して、エクソソームの**プロテオミクス解析**（用語説明 6）データを用いる機械学習を行った。その結果、エクソソームをマーカーとして使うことで、がん患者と健常者を分けることができるだけでなく、がん種の特定にも有効であることが分かった。

本研究では、426 のヒト由来サンプルを用いた分析で、様々な組織（血漿、血清、手術組織等）からのエクソソーム全てに共通する「エクソソームマーカー」候補を見つけることに成功した。そのうえで、様々なステージの 16 種類のがん（乳がん、肺がん、中皮腫、膵臓がんなど成人のがんと、骨肉腫、神経芽細胞腫などの小児がん）の患者の血漿由来エクソソームのプロテオミクス解析と健常人のものを元に、機械学習を用いてエクソソーム含有タンパク質の種類によって、がんの有無を判定することができることを見出した。さらに、プロテオミクスから得られたエクソソームに含まれるタンパク質パネルを元に、がん種を分けられることを発見した（図 2）。さらに、がん種特定やがんの有無を分けるために用いることができるエクソソーム含有タンパク質パネルには、がん細胞が直接産生するエクソソームだけでなく、その他の“正常細胞”から得られるメッセージが有力であることを明らかにした。これらの結果から、がん細胞が産生するエクソソームだけでなく、得られる全てのエクソソームによってがんの有無を確認でき、さらにがん種の特定まで可能であるこ

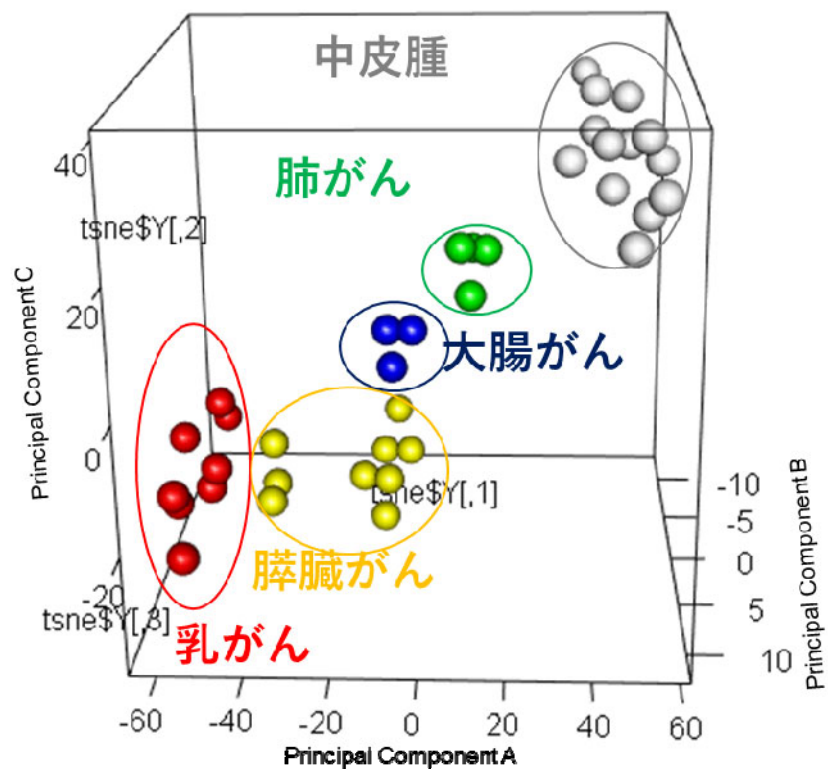


図 2 がん患者の血液中のエクソソームのプロテオミクス解析により、がんのステージに関係なく種類別にクラスタリングすることが確認された。

とを見出した。つまり、がん患者の血液には、がんの進行度合いに関係なくがん種別に体内で変化が起きており、それを反映した十分な量のバイオマーカーが存在していることになる。

今回の研究成果は、特に膵臓がんなどの、早期ステージではなかなか見つからないがん種の特定に用いることが期待できるという点で、非常に大きなインパクトがあるといえる。また5%ほどの患者では、転移は見つかるものの、どの種類のがんが原発なのか分からない「原発不明がん」としてがんが見つかることがある。そうした患者のがん種をエクソソームで特定できれば、これまで原発巣が不明なため治療法を選ぶのが困難だった患者の診断基準となると期待される。また診断の際に、一つのソース（例えばがん細胞）だけに頼ると、それが何らかの理由で検出できなかった時に偽陰性が生まれる恐れがある。エクソソームから得られる情報を用いれば、体内の様々な細胞のがんの存在に対して反応しているサイン全てをバイオマーカーとして活用できるため、そうした見落としの可能性を低くできると考えられる。前述の機械学習では、がんの診断としては感度95%、特異度90%の結果が得られた。

●今後の展開

本研究では、エクソソーム含有タンパク質が、がんの有無の判定だけでなく、がん種の特定にも役立つことが分かった。今後はさらにサンプル数を増やして分析を行い、がん種についてもさらに幅広く検討する必要がある。今回は概念実証（proof of principal）としての論文となったが、今後実用化に向けて研究を進めていく予定である。さらに、本研究では必要なタンパク質パネルが特定されたが、今後はその全てが必要であるか、どのパネルの使用が最も有用であるかについても検討する。

【用語説明】

- (1) **バイオマーカー**：特定の疾病の有無やその進行度を反映する、血液中のタンパク質などを用いた測定
- (2) **エクソソーム含有タンパク質パネル**：エクソソームに含まれるタンパク質をプロテオミクス解析する際の各要素を指す。これらを解明することで、がんの有無、もしくはがん種の特定に最も有用な予測分子のパネルを見出した
- (3) **インテグリン**：細胞の表面にあるタンパク質で、細胞同士をつなぐ役割等がある。 α と β サブユニットからなるヘテロダイマーで、ヒトでは24種類確認されている。その中でも、研究グループでは、 $\alpha 6 \beta 4$ インテグリンはエクソソームを肺へ導き $\alpha v \beta 5$ は脳へ導く「郵便番号」の様な役割をすることを報告している

- (4) **CEMIP** : ヒアルロン酸結合タンパク質で、エクソソーム上のこの分子はエクソソームを脳内の血管内皮細胞へ導きその形質を変化させることを報告している
- (5) **ELISA 解析** : 抗体を使った免疫学的測定法。エクソソームに特定のタンパク質が含まれているかどうかを測定することができる
- (6) **プロテオミクス解析** : タンパク質の網羅的解析。エクソソームに含まれるタンパク質リストが得られる。

【参考文献】

- [1] Hoshino et al., "Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis." *Nature* 527(7578) 329 - 35 2015 年 11 月 19 日
<https://doi.org/10.1038/nature15756>
- [2] Rodrigues, Hoshino et al., "Tumour exosomal CEMIP protein promotes cancer cell colonization in brain metastasis." *Nature cell biology* 21(11) 1403 - 1412 2019 年 11 月
<https://doi.org/10.1038/s41556-019-0404-4>

【論文情報】

掲載誌 : *Cell*

論文タイトル : Extracellular Vesicle and Particle Biomarkers Define Multiple Human Cancers

著者 : Ayuko Hoshino, Han Sang Kim, et al.

DOI : 10.1016/j.cell.2020.07.009

【問い合わせ先】

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系
准教授 星野歩子

Email: ayukohoshino@bio.titech.ac.jp

TEL: 045- 924 -5139

FAX: 045- 924 -5139

【取材申し込み先】

東京工業大学 総務部 広報課

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661