

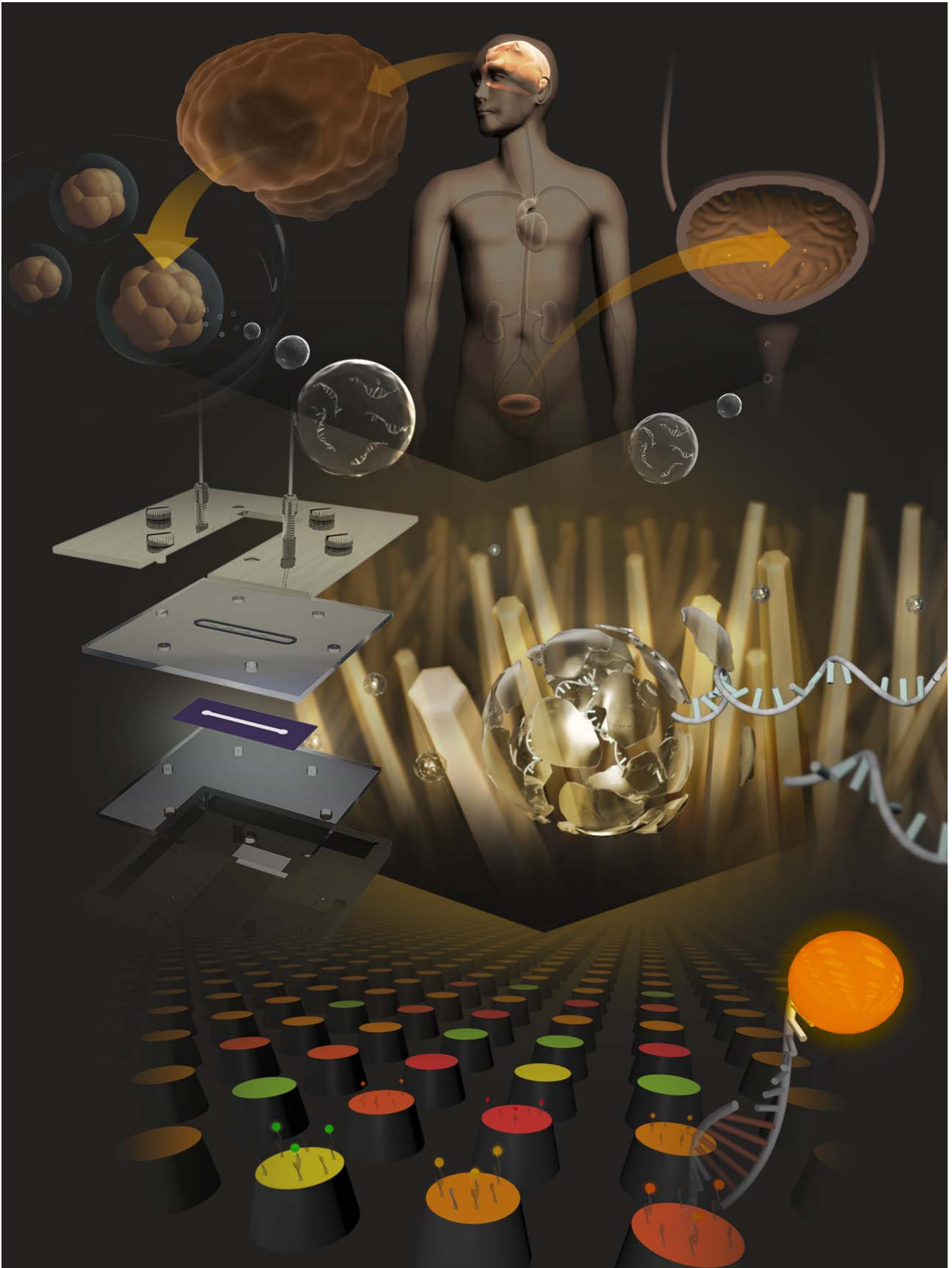
## 脳腫瘍を 1mL の尿で判定可能に！ ～尿中のマイクロ RNA にて 99%の正確度で脳腫瘍を発見～

名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学の夏目敦至（なつめあつし）准教授、北野詳太郎（きたのようたろう）客員研究員（筆頭著者）、青木恒介（あおきこうすけ）特任助教（共筆頭著者）、同大学大学院工学研究科生命分子工学専攻の安井隆雄（やすいたかお）准教授らは、尿中に含まれるマイクロ RNA<sup>\*1</sup> という物質を測定することで 99%の正確度で脳腫瘍が診断できることを明らかにしました。

多くの脳腫瘍の患者さんは手足が動かない等の症状が出現するまで、CT や MRI 検査を受ける機会がなく、脳腫瘍が発見された時にはすでにかなりの大きさに進行している事が多くあります。進行した脳腫瘍は手術で完全に除去することが難しいため、腫瘍が小さいうちに発見し、治療を開始する事が重要になります。そこで、誰でもいつでも簡単に採取することができる尿を用いて、脳腫瘍を発見可能な方法の開発を試みました。

個々の細胞は細胞外小胞体<sup>\*2</sup> に含まれるマイクロ RNA という核酸物質を介して、体内の離れた細胞に情報を伝達すると考えられています。今回、ナノサイズの酸化亜鉛<sup>\*3</sup> の氷柱状の結晶（ナノワイヤ<sup>\*4</sup>）が約 1 億本密集していることを利用して、尿中の細胞外小胞体をより効率よく集める装置を開発し、わずか 1mL の尿から従来の方法に比べ大量のマイクロ RNA を抽出することに成功しました。なお、この装置は、多数の尿を同時に処理することもできます。この装置を用いることで、脳腫瘍が分泌する特徴的なマイクロ RNA を尿でも見つけられること、尿中のマイクロ RNA を調べることで脳腫瘍の種類や大きさを問わず、99%の正確度<sup>\*5</sup>（感度<sup>\*6</sup> 100%、特異度<sup>\*7</sup> 97%）で脳腫瘍を診断できることを世界で初めて発見しました。他の腫瘍においても特徴的なマイクロ RNA の発現パターンが存在する可能性が極めて高く、今回と同様の方法で様々な腫瘍が同時に診断できる可能性があります。

本研究成果は、米国化学会誌「ACS Applied Materials & Interfaces」（英国時間 2021 年 4 月 1 日付）のオンライン版に公開されました。なお、本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の先進的医療機器・システム等技術開発事業（先進的医療機器・システム等開発プロジェクト）の「超高精度・無侵襲早期がん診断を実現する尿中 microRNA の簡易な機械解析システムの開発」の支援を受けました。



## ポイント

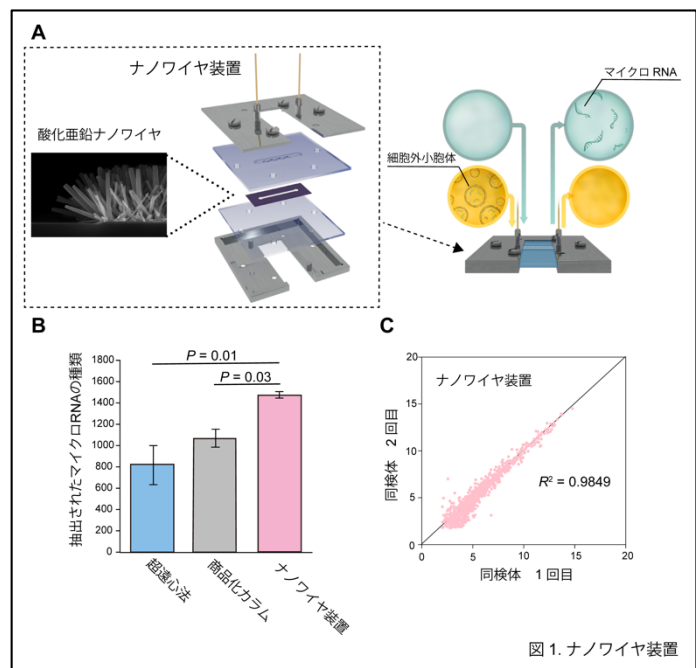
- 脳腫瘍は手足の麻痺等の症状が出現して初めて検査されることが多く、発見された時には手術で完全に除去することが難しいくらい進行している事があります。
- 脳腫瘍の生存率を上昇のために、脳腫瘍の早期発見が課題です。
- ナノワイヤ装置を用いることで、尿中のマイクロ RNA を従来の方法に比べ大量に取り出すことに成功しました。脳腫瘍が分泌する特徴的なマイクロ RNA は尿でも高頻度に同定できること、そして尿を用いた脳腫瘍の診断が 99%の正確度でできることを世界で初めて示しました。
- 本研究成果はわずかな尿で脳腫瘍だけではなく、多種類のがんを同時に発見できる方法の開発につながる可能性があります。

## 1. 背景

がんの早期発見は、近年のがんの生存率の上昇の一つの要因とされています。しかし、脳腫瘍の生存率はここ 20 年でほぼ変化がなく、これは他のがんに比べ、脳腫瘍が発見される時期が遅いことが原因のひとつと考えられます。一般的に、手足が動かない、言葉が話せないといった神経症状が出現して初めて CT や MRI 検査を受け、脳腫瘍が発見される患者さんが多く、その場合はすでにかかなりの大きさに進行しているため、手術で完全に除去することがしばしば困難です。腫瘍が小さいうちに発見し、治療を開始することが重要と考えられます。我々は、生体の機能を調整する核酸であるマイクロ RNA を脳腫瘍診断のバイオマーカー<sup>※8</sup>の候補と考えました。マイクロ RNA は細胞外小胞体の中に含まれており、多くの細胞外小胞体は血液だけでなく尿中でも壊れずに安定して存在しています。尿は誰でもいつでも簡単に、体に負担をかけることなく採取ができる利点がある一方で、超遠心法等の従来の方法では尿から多くの種類のマイクロ RNA を集めることができませんでした。そこで、尿中の細胞外小胞体が効率良く集められるナノサイズの酸化亜鉛ナノワイヤ装置を開発し、尿による早期の脳腫瘍診断方法の確立を目指しました。

## 2. 研究成果

今回、ナノワイヤを約 1 億本搭載した大量生産可能な装置を開発しました (図 1A)。このナノワイヤ装置は各部品を組み立てて作成するため、各々の部品を滅菌する事が可能であり、医療用機器として使用できるという可能性も秘めています。この装置で尿中の細胞外小胞体を捕捉し、内部のマイクロ RNA を抽出したところ、従来の超遠心法や商品化カラムの方法に比べ、明らかに多くの種類のマイクロ RNA を高純度で抽出することが可能であり (図 1B)、また高い再現性を示しました (図 1C)。



脳腫瘍由来のマイクロ RNA が尿中に認めるかどうかを調べるため、脳腫瘍患者さんの腫瘍組織（オルガノイド<sup>※9</sup>）を培養し、ナノワイヤ装置を用いて脳腫瘍組織が分泌しているマイクロ RNA を抽出しました。そしてマイクロアレイ<sup>※10</sup> 解析をおこなったところ、健康な人に比べて脳腫瘍患者さんの尿で発現変動を示していたマイクロ RNA の 73.4%は、その患者さんの脳腫瘍自体から分泌されたマイクロ RNA であることがわかりました。一方、脳腫瘍が分泌する特徴的なマイクロ RNA は健康な人の尿中にはほとんど含まれていないこともわかりました。これらの結果から、脳腫瘍が分泌した特徴的なマイクロ RNA を含む細胞外小胞体は、尿中に安定して存在していると考えられました（図 2）。

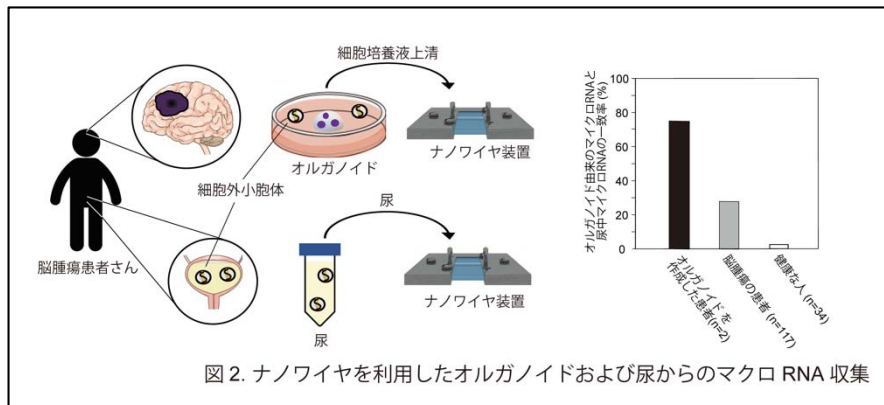


図 2. ナノワイヤを利用したオルガノイドおよび尿からのマクロ RNA 収集

続いて、尿中のマイクロ RNA の脳腫瘍のバイオマーカーとしての可能性を検討するため、68 名の脳腫瘍患者さんと 66 名の健康な人の尿から、マイクロ RNA を抽出し、マイクロ RNA の発現の比較を行いました。脳腫瘍患者さんのマイクロ RNA の組み合わせには特徴的な発現パターンがあることがわかり、別の 34 名の脳腫瘍患者さんと 34 名の健康な人をそのパターンをもとに分類したところ、99%の正確度（感度：100%、特異度：97%）で脳腫瘍を診断できることを世界で初めて発見しました（図 3）。さらに、非常に稀な脳腫瘍に罹患している患者さん 15 名も、この方法で判定を行ったところ、15 名全員が“脳腫瘍あり”と正しく判定されました。今回、我々が作成したモデルは脳腫瘍の悪性度や大きさを問わず、正確に診断することができました。本研究から尿中のマイクロ RNA は今後、脳腫瘍のバイオマーカーとして実用化される可能性が示されました。

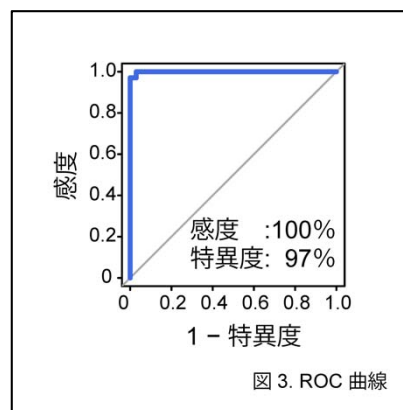


図 3. ROC 曲線

### 3. 今後の展開

同様の方法を用いて、肺がん等の他のがんも尿で高精度に診断できる可能性が高いと考えます。それを達成することで、わずかな尿を使用し、脳腫瘍だけではなく、多種類のがんを同時に発見できる可能性があります。

### 4. 用語説明

※1 マイクロ RNA：生体機能を制御する小さな RNA。細胞内には多種類のマイクロ RNA が存在し、様々な生体機能を調節している。

※2 細胞外小胞体：細胞が分泌する直径 40~5000nm の小胞体。

※3 酸化亜鉛：日焼け止めなどに使われている素材。

※4 ナノワイヤ：数 10-100nm の大きさから構成される一次元の氷柱状のナノ結晶体。

- ※5 **正確度**：検査の性能を表す指標。全体の中で正しく判断される割合。
- ※6 **感度**：検査の性能を表す指標。疾患を有するもののうち、検査が正しく陽性と判断したものの割合。真陽性率。
- ※7 **特異度**：検査の性能を表す指標。疾患を有さないもののうち、検査が正しく陰性と判断したものの割合。真陰性率。
- ※8 **バイオマーカー**：ある疾患の有無や、進行状態を示す目安となる生理学的指標。
- ※9 **オルガノイド**：臓器の機能を有している初代組織に由来する、*in vitro*の3D細胞集合体。
- ※10 **マイクロアレイ**：遺伝子情報を網羅的に検出することができる基盤。

## 5. 発表雑誌

掲雑誌名：ACS Applied Materials & Interfaces ”Open Access”

論文タイトル：Urinary MicroRNA-based Diagnostic Model for Central Nervous System Tumors Using Nanowire Scaffolds

著者：Yotaro Kitano,<sup>1,2,‡</sup> Kosuke Aoki,<sup>1,3,‡,\*</sup> Fumiharu Ohka,<sup>1</sup> Shintaro Yamazaki,<sup>1</sup> Kazuya Motomura,<sup>1</sup> Kuniaki Tanahashi,<sup>1</sup> Masaki Hirano,<sup>1</sup> Tsuyoshi Naganawa,<sup>4</sup> Mikiko Iida,<sup>4</sup> Yukihiro Shiraki,<sup>5</sup> Tomohide Nishikawa,<sup>1</sup> Hiroyuki Shimizu,<sup>1</sup> Junya Yamaguchi,<sup>1</sup> Sachi Maeda,<sup>1</sup> Hidenori Suzuki,<sup>2</sup> Toshihiko Wakabayashi,<sup>1</sup> Yoshinobu Baba,<sup>3,4,6</sup> Takao Yasui,<sup>3,4,7,\*</sup> and Atsushi Natsume<sup>1,3,\*</sup>

所属：1. Department of Neurosurgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

2. Department of Neurosurgery, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu, Japan

3. Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University, Nagoya, Japan

4. Department of Biomolecular Engineering, Nagoya University Graduate School of Engineering, Nagoya, Japan

5. Department of Pathology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

6. Institute of Quantum Life Science, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Chiba, Japan

7. Japan Science and Technology Agency (JST), PRESTO, Kawaguchi, Japan

‡ These authors contributed equally to this work.

DOI : 10.1021/acsami.1c01754

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/ACS\\_App\\_Mat\\_210402en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/ACS_App_Mat_210402en.pdf)