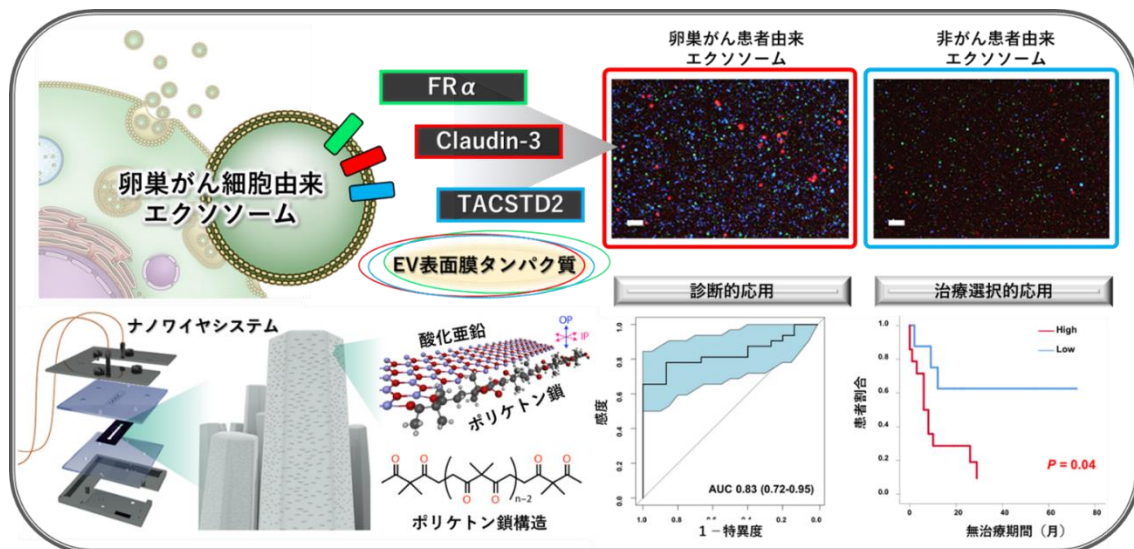


# 卵巣がんに対する新しいバイオマーカーとして期待 ポリケトン鎖修飾ナノワイヤを用いた新たなエクソソーム捕捉法を開発

## 【ポイント】

- ・卵巣がん細胞外小胞(EV)の詳細なタンパク質情報、さらにはその多様性を解明
- ・卵巣がん EV が特異的に搭載するバイオマーカータンパク質を発見
- ・EV を簡便に回収するナノ流体デバイス、ポリケトン鎖修飾ナノワイヤの開発に成功
- ・卵巣がん診療を改善する新しいバイオマーカーとして期待



卵巣がんエクソソームに特異的に存在する三つのタンパク質を同定。ポリケトン鎖を修飾したナノワイヤにて回収したエクソソームに対し同分子を解析することで、がんの診断や、その後の治療経過を予測できること(右下図)が明らかになり、治療選択に貢献するバイオマーカーとして期待される。

## 【要旨】

名古屋大学医学部附属病院産科婦人科(同大学高等研究院兼務)の横井暁 病院講師、名古屋大学大学院医学系研究科産婦人科学の鵜飼真由 医師[現トヨタ記念病院産婦人科医長]、梶山広明 教授、東京工業大学生命理工学院の安井隆雄 教授、北海道大学大学院工学研究院(同大学創成研究機構化学反応創成研究拠点 WPI-ICReDD)の猪熊泰英 教授、国立がん研究センター研究所病態情報学ユニットの山本雄介 ユニット長、慶應義塾大学薬学部薬物治療学講座の松崎潤太郎 准教授、東京医科大学医学総合研究所の落谷孝広 特任教授らの研究グループは、卵巣がんエクソソーム<sup>\*1</sup>における特異的な膜タンパク質<sup>\*2</sup>を網羅的プロテオミクス<sup>\*3</sup>により新しく同定し、かつ、エクソソーム分離方法としてポリケトン鎖<sup>\*4</sup>修飾ナノワイヤを開発しました。これらの結果は、卵巣がんの診断や治療経過予測に関する新しいバイオマーカー<sup>\*5</sup>として期待されます。

エクソソームを含む細胞外小胞(EV)<sup>\*6</sup>は、ヒトのあらゆる体液中に存在し、細胞間コミュニケーションに不可欠なツールとして注目されています。また、疾患に応じて搭載する分子に変化が生じるため、有望な疾患バイオマーカーとして期待されています。EVにおいて、表面に存在する膜タンパク質は、特定のEVを検出するのに、またそれ自体がバイオマーカーとして利用できるため極めて重要ですが、卵巣がんにおける特異的なEV膜タンパク質は分かっておらず、大きな課題となっていました。卵巣がんは予後の悪い女性生殖器悪性腫瘍であり、世界の女性のがん死亡原因の主要な一つとなっています。卵巣がんは早期発見が極めて困難ながんの一つであり、高精度高感度なバイオマーカーの開発が急務となっていました。本研究では、卵巣がんにおけるEVを対象に、詳細なタンパク質量解析を行うことで、卵巣がんEV関連膜タンパク質である、FR $\alpha$ 、Claudin-3、TACSTD2を同定しました。また、EVを捕捉する手段の一つであるナノワイヤ<sup>\*7</sup>を応用し、ナノワイヤをポリケトン鎖修飾することでEV結合性を高め、より純度の高いEVを捕捉することを可能にしました。これらの知見を組み合わせた方法を用いることで、卵巣がん患者におけるEVを利用した新しい検出方法を開発しました。これらの研究結果は、卵巣がんに対する新しいバイオマーカーとして期待されます。

本研究は主に、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)の創発的研究支援事業:研究課題名『がん細胞外小胞の臨床応用へ向けた基盤技術開発研究』(JPMJFR204J)、『「中分子ひも」を鍵とする巨大機能性分子の創成』(JPMJFR211H)、戦略的創造研究推進事業さきがけ『細胞外小胞の網羅的捕捉と機械的解析によるmiRNA分泌経路の解明』(JPMJPR19H9)、および国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の革新的がん医療実用化研究事業:研究課題名『卵巣がんゲノム搭載細胞外小胞による新規リキッドバイオプシー戦略』の支援を受け行ったもので、本研究成果は、学術雑誌「Science Advances」の電子版(2023年7月7日付)に掲載されました。

## 1. 背景

卵巣がんは本邦では年間約 1 万 3000 人が罹患し、その約半数が命を落とす大変予後の悪いがんです。早期スクリーニングが困難なため、ほとんどの症例が進行期で診断され、5 年生存率は 45%以下とされています。そのため、早期発見がとて重要になりますが、現状、有効なスクリーニング方法は十分ではありませんでした。卵巣がんは様々な種類がありますが、本研究ではもっとも頻度の高い高悪性度漿(しょう)液性(えきせい)がん(HGSC)を対象としました。これまで HGSC に特異的で感度の高いバイオマーカーや、さらに、細胞外小胞(EV)に関連した膜タンパク質についてはほとんど分かっていませんでした。

エクソソームをはじめとする EV は、古くからヒトの体液中に存在することが知られており、近年、細胞間コミュニケーションに不可欠なツールとして医学生物学分野においてその価値がますます高まってきました。EV に含まれる様々な生理活性物質の中でも、膜タンパク質は、応用性に富んだ重要なターゲット分子です。また近年、体液中の EV の不均一性の理解も重要視されており、詳細かつ精巧な EV プロテオミクスの評価は、この分野の大きな課題でした。また、臨床バイオマーカーとして実用化されるためには、EV 上の疾患関連分子の同定、EV の不均一性の理解の 2 点に加えて、EV 捕捉法の簡便化の実現という点も重要な課題として挙げられます。その点において、EV回収方法の技術革新へ向けたテクノロジーの応用が強く期待されていました。

## 2. 研究成果

本研究グループでは卵巣がん細胞や非がん細胞、卵巣がん患者さんの血液や腹水から、200nm 以下の小さな EV(small EV)であるエクソソームと、それ以上の大きな EV(medium/large EV: m/LEV)を同時に抽出し、液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS/MS)を用いて、網羅的にタンパク質を解析しました。その結果、エクソソームと m/LEV で明らかに異なる分子を搭載していることが明らかになりました。さらに、検証の結果、エクソソームは m/LEV よりもバイオマーカーの標的として適していることがわかりました。その結果、エクソソームにおいて、HGSC に強く関連する膜タンパク質である、FR $\alpha$ 、Claudin-3、TACSTD2 が同定されました。エクソソームの捕捉について、ポリケトン鎖修飾ナノワイヤ(polyketone nanowire: pNW)を開発し、pNW が、血清や腹水からエクソソームを簡単な手順で分離できることを明らかにしました。本研究グループの pNW を用いた卵巣がん患者エクソソーム解析の結果では、同定した三つのタンパク質がそれぞれ、HGSC を対象としたバイオマーカーとして有用であることが示されました。

## 3. 今後の展開

本研究では、前述のバイオマーカーとしての EV 実用化に対する課題である(1)EV 上の疾患関連分子の同定、(2)EV の不均一性の理解に加えて、(3)EV 捕捉法の簡便化 のそれぞれにつき一定の回答を提示することができました。本研究成果は、エクソソームをはじめとする EV の更なる理解、卵巣がん疾患成立メカニズムの解明、卵巣がん EV の実臨床応用など、分野横断的に広く貢献し得る成果といえます。今後さらなる検討・検証を通した、卵巣がんエクソソームによるバイオマーカーの実現が期待されます。

#### 4. 用語説明

##### ※1 エクソソーム

細胞が分泌する直径 100 nm 前後の小さな胞体。細胞の情報を搭載して、細胞外へ放出され、生命に重要な機能を有する。

##### ※2 膜タンパク質

細胞または細胞小器官などの生体膜に付着しているタンパク質分子。細胞外小胞の膜に付着している。

##### ※3 網羅的プロテオミクス

タンパク質の種類について、一括して広く解析する方法。

##### ※4 ポリケトン鎖

炭化水素鎖の上にカルボニル基(C=O)を複数持つ化合物。天然の分子や人工プラスチックなどに類似の構造が多く見られる。

##### ※5 バイオマーカー

タンパク質や遺伝子などの分子で、病気の存在や、治療法選択などの指標となるもの。

##### ※6 細胞外小胞(Extracellular vesicles, EV)

細胞が分泌する直径 40~1000 nm の小胞体。エクソソームは EV の一つで、主に直径 200nm 以下の小さな EV を指す。

##### ※7 ナノワイヤ

数 10~100 nm の大きさから構成される一次元の棒状ナノ構造体。発表論文

#### 【論文情報】

雑誌名: Science Advances

論文タイトル: Identifying high-grade serous ovarian carcinoma-specific extracellular vesicles by polyketone-coated nanowires

著者名・所属名:

Akira Yokoi<sup>1,2,3\*†</sup>, Mayu Ukai<sup>1\*</sup>, Takao Yasui<sup>4,5,6,7†</sup>, Yasuhide Inokuma<sup>3,6,8,9</sup>, Kim Hyeon-Deuk<sup>6,10</sup>, Juntaro Matsuzaki<sup>11</sup>, Kosuke Yoshida<sup>1,2</sup>, Masami Kitagawa<sup>1,12</sup>, Kunanon Chattrairat<sup>5</sup>, Mikiko Iida<sup>5</sup>, Taisuke Shimada<sup>5</sup>, Yumehiro Manabe<sup>8</sup>, I-Ya Chang<sup>10</sup>, Eri Asano-Inami<sup>1,12</sup>, Yoshihiro Koya<sup>12</sup>, Akihiro Nawa<sup>12</sup>, Kae Nakamura<sup>1,13</sup>, Tohru Kiyono<sup>14</sup>, Tomoyasu Kato<sup>15</sup>, Akihiko Hirakawa<sup>16</sup>, Yusuke Yoshioka<sup>17</sup>, Takahiro Ochiya<sup>17</sup>, Takeshi Hasegawa<sup>18</sup>, Yoshinobu Baba<sup>4,6,19</sup>, Yusuke Yamamoto<sup>20</sup>, Hiroaki Kajiyama<sup>1</sup>

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466-8550, +81-52-744-2261, Japan

2. Nagoya University Institute for Advanced Research, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, +81-52-789-5111, Japan

3. Japan Science and Technology Agency (JST), FOREST, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama, 332-0012, +81-48-226-5601, Japan
4. Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, Nagatsuta 4259, Midori-ku, Yokohama 226-8501, +81-45-924-5652, Japan
5. Department of Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, +81-52-789-5111, Japan
6. Japan Science and Technology Agency (JST), PRESTO, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama, 332-0012, +81-48-226-5601, Japan
7. Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, +81-52-789-5111, Japan
8. Division of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Hokkaido University, Kita 13 Nishi 8 Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 060-8628, +81-11-706-6556, Japan
9. Institute for Chemical Reaction Design and Discovery (WPI-ICReDD), Hokkaido University, Kita 21, Nishi 10, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 001-0021, +81-11-706-6556, Japan
10. Department of Chemistry, Kyoto University, Kyoto 606-8502, +81-75-753-4021, Japan
11. Division of Pharmacotherapeutics, Keio University Faculty of Pharmacy, 1-5-30 Shibakoen, Minato-ku, Tokyo, 105-8512, +81-3-3434-6241, Japan
12. Bell Research Center, Department of Obstetrics and Gynecology Collaborative Research, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466-8550, +81-52-789-5111, Japan
13. Center for Low-Temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, +81-52-789-5111, Japan
14. Project for Prevention of HPV-related Cancer, Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center, 6-5-1 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba, 277-8577, +81-4-7133-1111, Japan
15. Department of Gynecologic Oncology, National Cancer Center Hospital, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo, 104-0045, +81-3-3542-2511, Japan
16. Department of Clinical Biostatistics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8519, +81-3-3813-6111, Japan
17. Department of Molecular and Cellular Medicine, Institute of Medical Science, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo, 160-0023, +81-3-3342-6111, Japan

18. Institute for Chemical Research, Kyoto University, Gokasho, Uji, Kyoto 611-0011, +81-774-38-3070, Japan

19. Institute of Quantum Life Science, National Institutes for Quantum and Radiological, Science and Technology, 4-9-1 Kanagawa, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba, 263-8555, +81-43-206-3025, Japan

20. Laboratory of Integrative Oncology, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo, 104-0045, +81-3-3542-2511, Japan

\* Co-first author

† Co- correspondence

DOI: 10.1126/sciadv.ade6958

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical E/research/pdf/Sci\\_230708en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical%20E/research/pdf/Sci_230708en.pdf)

=====

本研究結果は、以下をはじめとする多くの海外メディアにて紹介されました。

【海外メディア等記事へのリンク ※外部サイトへ接続】

**EurekaAlert!**

<https://www.eurekaalert.org/news-releases/994116>

**米国 NBC**

<https://www.nbcrightnow.com/lifestyles/health/simple-blood-test-for-ovarian-cancer-on-the-horizon-after-recent-discovery/article/be84f966-03ba-5c37-8d4a-0e3120e50193.html>

**Medical News Today**

<https://www.medicalnewstoday.com/articles/new-biomarkers-for-ovarian-cancer-may-help-diagnose-condition-sooner>