

尿中 DNA 変異検出による神経膠腫(グリオーマ)検知 ～DNA のキャッチ&リリース技術を開発～

【本研究のポイント】

- ・脳腫瘍は手足の麻痺等の症状が出現して初めて発見されることが多く、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ことが多くある。脳腫瘍の生存率上昇には脳腫瘍の早期発見が必要。
- ・無細胞 DNA (cell-free DNA: 以下 cfDNA)^{注1)}は、非侵襲的ながんバイオマーカー^{注2)}として、米国食品医薬品局(以下 FDA)から血液検体を用いた Guardant360 CDx テスト^{注3)}や FoundationOne Liquid CDx^{注4)}の形で承認されており、その臨床的意義については現在も注目されている。
- ・尿中 cfDNA は、がんのスクリーニング、診断、予後、がんの進行や治療効果のモニタリングのための真の非侵襲的バイオマーカーとして認識されている。
- ・ナノワイヤ^{注5)}上での尿中 cfDNA のキャッチ&リリースを提唱・実証し、尿中の微量な cfDNA から、神経膠腫(グリオーマ)^{注6)}における遺伝子変異であるイソクエン酸デヒドロゲナーゼ 1 (IDH1)^{注7)}変異の検出に成功した。
- ・尿による簡易検査でがんの早期診断を行う分析ツールへの応用が期待される。

【研究概要】

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院工学研究科の馬場 嘉信 教授、安井 隆雄 客員教授らの研究グループは、名古屋大学未来社会創造機構の夏目 敦至 特任教授、東京大学大学院工学系研究科の柳田 剛 教授、モンクット王工科大学ラートクラバン校(タイ王国)のサーコン・ラホング 准教授との共同研究で、ナノワイヤ表面での尿中 cfDNA のキャッチ&リリース技術を開発し、尿中 cfDNA から、グリオーマにおける遺伝子変異である IDH1 変異の検出に成功しました。

本研究では、ナノワイヤ表面と cfDNA の水素結合に着目し、水素結合を介した cfDNA の「キャッチ」、競合的に結合可能な分子の導入による cfDNA の「リリース」のメカニズムを解明し、尿中 cfDNA のキャッチ&リリース技術を開発しました。本技術を展開することで、従来法では分離できなかった他のがん種の尿中 cfDNA の変異検出への発展が期待されます。

本研究成果は、2023 年 5 月 30 日付 Elsevier 雑誌「Biosensors and Bioelectronics」に掲載されました。

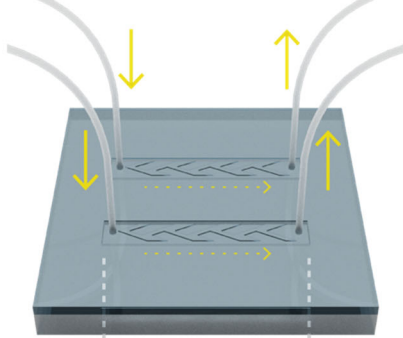
【研究背景と内容】

近年、がんの解析は、分子解析技術の進歩により、再現性のある低侵襲な方法での検出と特性評価が可能になりました。cfDNA は、非侵襲的ながんバイオマーカーとして、FDA から Guardant360 CDx テストや FoundationOne Liquid CDx の形で承認されており、その臨床的意義はアメリカ国立衛生研究所(NIH)や各国のリキッドバイオプシー学会によって現在も強調されてきています。特に、尿中 cfDNA は、がんのスクリーニング、診断、予後、がんの進行や治療効果のモニタリングのためのサンプル収集が極めて容易な“真の非侵襲的バイオマーカー”として認識されています。しかし、cfDNA の濃度が比較的低い尿から cfDNA を効率よく分離する技術がないことが大きなボトルネックとなっています。いくつかの研究では、従来の抽出法は、尿中の短い断片化した cfDNA を分離するのに非効率的であることが報告されています。したがって、尿中 cfDNA のポテンシャルを最大限活用することはできていません。

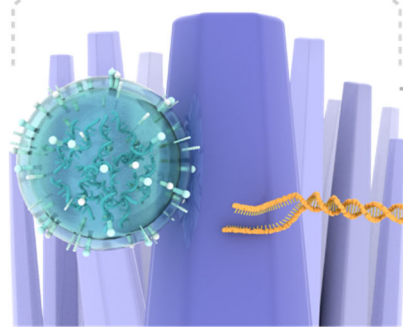
本研究では、尿リキッドバイオプシー^{注 8)}への応用のために、ナノワイヤ表面での cfDNA のキャッチ&リリースを提唱・実証することで、この cfDNA 分離における非効率性の課題を克服しました。また、以前までの報告において細胞外小胞^{注 9)}の捕捉と脳腫瘍検知を可能にしていた酸化亜鉛(ZnO)ナノワイヤを、cfDNA 分離によるグリオーマ変異検出に活用しました(図 1)。はじめに、キャッチのメカニズム解明に取り組み、ZnO ナノワイヤ表面の水分子と多点で水素結合させ、尿中の cfDNA を捕捉することを確認しました。次に、cfDNA と水素結合する ZnO に競合的に結合可能な分子を導入することで、cfDNA が外れることを確認しました。この方法により、従来法では不可能であった尿中 cfDNA の分離と、尿中 cfDNA から、グリオーマにおける遺伝子変異である IDH1 変異の検出に成功しました(図 2)。これは、0.5 mL の尿サンプルから IDH1 変異を検出した最初の報告になりました。本成果は、尿中 cfDNA の分離によるがんサブタイプの検出、特に従来法では分離できなかった他のがん種の尿中 cfDNA の変異検出への発展が期待されます。

(以前の報告)

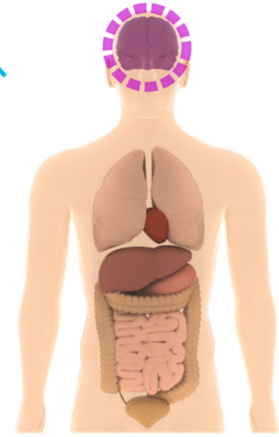
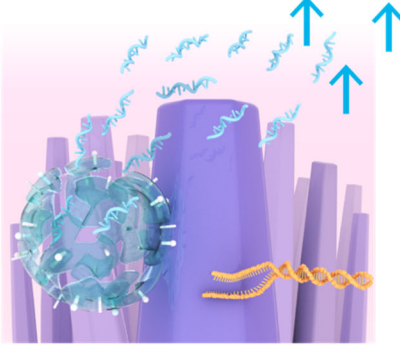
1. 尿をデバイスへ導入



2. cfDNA と細胞外小胞を捕捉



3-1. 細胞外小胞の捕捉と microRNA 検出による脳腫瘍検知



3-2. cfDNA の捕捉・脱離と グリオーマ検知

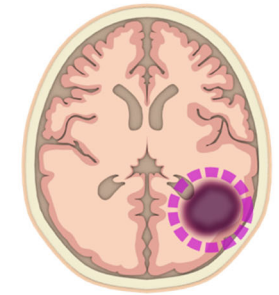
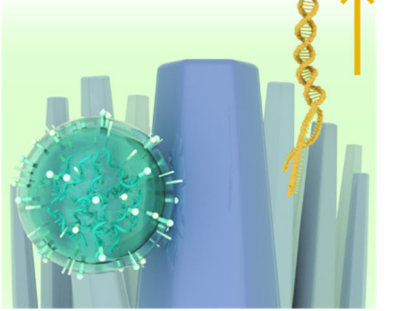
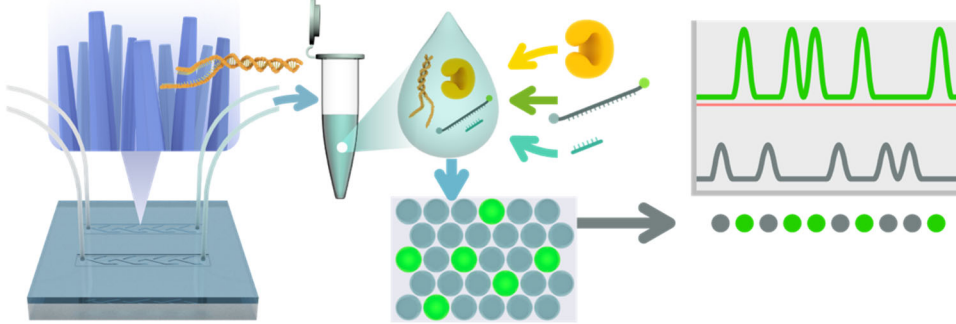
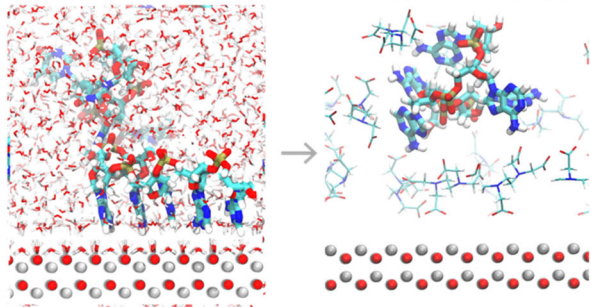


図 1: ナノワイヤデバイスによる脳腫瘍検知とグリオーマ検出

1. cfDNA キャッチ&リリース 2. IDH1 変異の検出



cfDNA キャッチ&リリースの分子動力学結果



従来手法 vs. ナノワイヤ

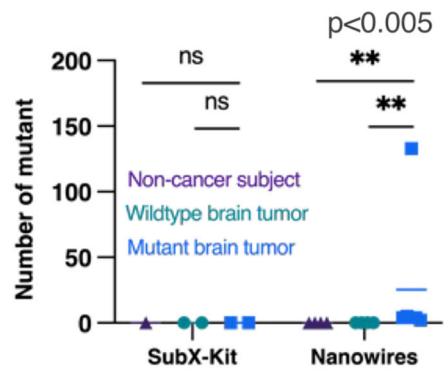


図 2: cfDNA のキャッチ&リリースの原理検証とグリオーマの検知

【成果の意義】

本研究は、化学、生物学、医学、ナノテクノロジーの技術を駆使して、現在の方法の欠点を克服し、尿中 cfDNA の臨床利用、特にがんの早期診断を促進する分析ツールとして最先端の手法を提供するものとなりました。本手法により、これまで手が出せなかった腫瘍の変異を、尿の簡易検査で検出する新たな可能性が開かれることとなります。

本研究は、科学技術振興機構(JST)戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)の e-ASIA 共同研究プログラム「マイクロ流体中の金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤによる Deng 熱疾患診断法の創成(JPMJSC19E3)」の支援のもとで行われたものです。

【用語説明】

注 1)無細胞 DNA(cell-free DNA):

破壊、あるいは死滅した細胞に由来する体液中の DNA のこと。

注 2)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。

注 3)Guardant360 CDx テスト:

固形がん患者の全血検体から抽出した cfDNA 中のがん関連遺伝子を網羅的に解析する DNA シークエンシング診断システムを用いた検査。

注 4)FoundationOne Liquid CDx:

固形がん患者のがん組織から血中に漏出する循環腫瘍 DNA を含む cfDNA をもとに複数のがん関連遺伝子の解析を行うがん遺伝子パネル検査。

注 5)ナノワイヤ:

直径が数 10~100nm の細線構造のナノ構造体。

注 6)神経膠腫(グリオーマ):

悪性の脳腫瘍の 1 つ。

注 7)イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 1(IDH1):

細胞内での基本的な代謝経路の 1 つとなっている酵素で、イソクエン酸から α -ケトグルタル酸を作る反応を司っており、細胞の生存に重要な代謝物質を作っている。

注 8)リキッドバイオプシー:

患者から体液を採取し、その中に含まれているがん細胞や、がん細胞由来の物質を解析する技術。

注 9)細胞外小胞:

細胞が分泌する直径 40~2000nm の小胞体。

【論文情報】

雑誌名: Biosensors and Bioelectronics

論文タイトル: Mutation detection of urinary cell-free DNA via catch-and-release isolation on nanowires for liquid biopsy

著者: Hiromi Takahashi^{1,2*}, Takao Yasui^{1,3,4*}, Masaki Hirano⁵, Keiko Shinjo⁶, Yusuke Miyazaki⁷, Wataru Shinoda⁷, Takeshi Hasegawa⁸, Atsushi Natsume⁴, Yotaro Kitano⁹, Mikiko Ida¹, Min Zhang¹, Taisuke Shimada¹, Piyawan Paisrisarn¹, Zetao Zhu¹, Fumiharu Ohka⁹, Kosuke Aoki⁴, Sakon Rahong¹⁰, Kazuki Nagashima^{3,11}, Takeshi Yanagida¹¹⁻¹³ and Yoshinobu Baba^{1,4,14*}

¹Department of Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan.

²School of Mechanical and Aerospace Engineering, Nanyang Technological University, 50 Nanyang Avenue, Blk N3, Level 2, Room 86 (N3-02c-86), 639798, Singapore.

³Japan Science and Technology Agency (JST), PRESTO, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan.

⁴Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan.

⁵Division of Molecular Oncology, Aichi Cancer Center Research Institute, Kanokoden, Chikusa-ku, Nagoya 464-0021, Japan.

⁶Division of Cancer Biology, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan.

⁷Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University, Okayama 700-8530, Japan

⁸Institute for Chemical Research, Kyoto University, Uji, Kyoto 611-0011, Japan.

⁹Department of Neurosurgery, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Tsurumai-cho 65, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan.

¹⁰College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chalongkrung Rd., Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

¹¹Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656,

Japan.

¹²The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, 8-1 Mihogaoka-cho, Ibaraki, Osaka 567-0047, Japan.

¹³Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, 6-1 Kasuga-Koen, Kasuga, Fukuoka 816-8580, Japan.

¹⁴Institute for Quantum Life Science, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Anagawa 4-9-1, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan.

DOI: 10.1016/j.bios.2023.115318

URL:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566323002609>