

2024 年 11 月 19 日

東京科学大学

名古屋大学

東京大学大学院工学系研究科

北海道大学

関西大学

Craif 株式会社

東京医科大学

尿中エクソソームのマイクロ RNA 解析による早期がん検知

－採血を必要としないがんの検知技術への応用に期待－

【ポイント】

- 尿中のエクソソームのマイクロ RNA を機械学習解析し、早期がん検知を達成
- ナノワイヤを用いて尿中に約 2,000 種以上のマイクロ RNA が存在することを確認
- 脳腫瘍、肺がん、非がんの 3 分類が可能

【概要】

東京科学大学（Science Tokyo）* 生命理工学院 生命理工学系の安井隆雄教授らの研究チームは、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、北海道大学 電子科学研究所の長島一樹教授、関西大学 商学部の鷲尾隆教授、Craif 株式会社の市川裕樹 CTO、東京医科大学 医学総合研究所の落谷孝広特任教授、大阪大学 産業科学研究所の川合知二招へい教授、量子科学技術研究開発機構（QST）量子生命科学研究所の馬場嘉信教授と共同で、尿中**エクソソーム**（用語 1）の**マイクロ RNA**（用語 2）を用いた早期がん検知を達成しました。

エクソソームは、全ての細胞が放出する微粒子（直径 40-200 nm 程度）であり、細胞と細胞がコミュニケーションする時の情報伝達物質として体内で機能しています。マイクロ RNA はエクソソームによって運ばれる情報であり、がん細胞が放出するエクソソームに含まれるマイクロ RNA は体内のがんに関連するサインであると考えられます。今回の研究では、“血液中のエクソソームは全てが細胞間のコミュニケーションに用いられずに一部が尿中へ排出される”という仮説を立て、尿中のエクソソームのマイクロ RNA 解析を実施しました。

尿中エクソソームのマイクロ RNA を機械学習解析したところ、早期がん患者を識別できることが分かりました。尿中のエクソソームを網羅的に捕まえるため、今回は 1 次元ナノ構造体の**ナノワイヤ**（用語 3）を用いました。次に、捕まえた尿中エクソソーム

* 2024 年 10 月 1 日に東京医科歯科大学と東京工業大学が統合し、東京科学大学（Science Tokyo）となりました。

からマイクロ RNA を取り出し、がんマーカーとなるようなマイクロ RNA の組み合わせ（**マイクロ RNA アンサンブル**、用語 4）を機械学習解析にて構築したところ、がん患者と非がん患者ではマイクロ RNA アンサンブルが異なることを発見しました（**感度** 98.2 %、**特異度** 96.5 %）（用語 5）。さらに、がん患者のマイクロ RNA アンサンブルを用いると、**AUROC**（用語 6）が 0.987 で早期がん患者を識別できました。

本成果は、10 月 18 日付（現地時間）の「*Analytical Chemistry*」誌にオンライン掲載されました。

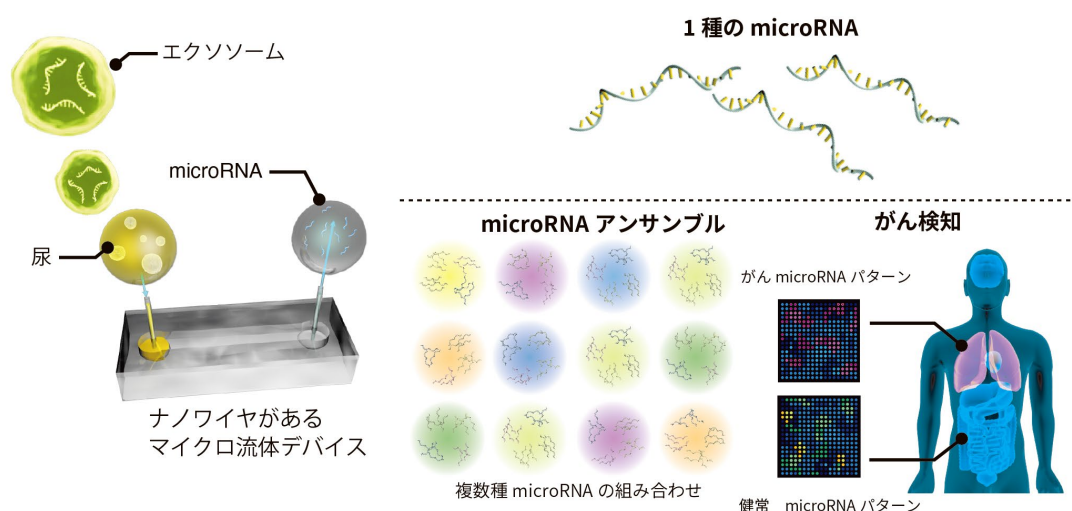


図 1 尿中エクソソームのマイクロ RNA 解析による早期がん検知図

●背景

ある種のマイクロ RNA の組み合わせは、健康人とがん患者で異なることが分かっているため、さまざまながんに関連するサインとなります。がん細胞は、血液中を循環するマイクロ RNA を介して、がん細胞の休眠の促進、腫瘍形成の促進、血液脳関門の破壊といった他の細胞の生物学的プロセスを制御することが報告されています。がんに関連する生命現象には複雑な生物学的プロセスが含まれているため、各種のがん生命現象に関連するマイクロ RNA は、1 種だけではなく複数種のマイクロ RNA が関与していると考えられます。この複数種のマイクロ RNA の組み合わせである“マイクロ RNA アンサンブル（図 1 中央下）”は、がん患者ごとに組み合わせが異なることが予見されました。昨今の研究成果においては、血液中のマイクロ RNA アンサンブルが健康人とがん患者を識別できる、という有望な成果も報告されています。

●研究成果

今回の研究では、非侵襲の早期がん検知を目指し、尿中のマイクロ RNA 解析と機械学習解析による尿中マイクロ RNA アンサンブルの構築を実施しました。研究グループは、血液の副産物である尿中マイクロ RNA アンサンブルは、血液中マイクロ RNA アン

サンプルと同じように、がんに関連するサインとして機能すると予想しました。血液中を循環するマイクロ RNA の多くは、体液中の情報伝達物質として知られるエクソソームに内包されています。エクソソームは、全ての細胞が放出する微粒子（直径 40-200 nm 程度）であり、細胞と細胞がコミュニケーションをとる時の情報伝達物質として体内で機能しています。エクソソームが血液中で移動する時間と、血液循環にかかる時間を考慮すると、1 回の血液循環の間で、血液中の全てのエクソソームが細胞間のコミュニケーションに使われることはないと思われれます。その結果、このコミュニケーションに使われなかったエクソソームは腎臓で非選択的に濾過されることが示唆されています。研究グループはこの仮説に基づき、尿中にがん細胞に由来するエクソソームが含まれる可能性を考えました。

尿中マイクロ RNA アンサンブルの構築には、尿中から検出されるマイクロ RNA 種類数を増やすことが重要です。これまでに論文で報告されている血液中のマイクロ RNA 種類数（2,000 種類以上）に対し、尿中で報告されているマイクロ RNA 種類数は少なく、構築可能なマイクロ RNA アンサンブルに限りがありました。そのため、採尿は採血よりも非侵襲的で優れていますが、尿中から検出されるマイクロ RNA 種類数が少ないことが尿中マイクロ RNA アンサンブル構築の研究における大きな壁であり、尿中マイクロ RNA アンサンブルによる早期がん検知が困難であると考えられてきた理由でもあります。

研究グループは、尿中から検出されるマイクロ RNA 種類数が少ない原因が、尿中のエクソソームを網羅的に捕まえることができないためであると考え、1 次元ナノ材料である“ナノワイヤ”を駆使し、尿中のマイクロ RNA 種類数が血液中と同程度であることを発見しました。研究グループはこれまでの研究において、単結晶の酸化亜鉛ナノワイヤを作製し、そのナノワイヤのクーロン力と水素結合によるエクソソームの網羅的捕捉・解析を実施してきました。その成果として、尿中エクソソームのマイクロ RNA 解析により、尿 1 mL から 1,300 種類以上のマイクロ RNA を発見することに成功しています。2000 種以上の存在が確認されているヒトマイクロ RNA はその機能がヒト機能維持に大きく関与していることから、従来技術（超遠心法）で尿 20 mL より発見された 300 種類程度という数字が尿中マイクロ RNA 種類数として妥当な数字であると長い間考えられており、研究グループの成果である 1,300 種類以上という数字は革新的な種類数でした。今回、研究グループは前回と同様の酸化亜鉛ナノワイヤを作製し、尿サンプル 200 検体（非がん 100 検体・がん 100 検体）を解析することで、ヒト種として尿中に含まれるマイクロ RNA 種類数の確認を行いました。その結果、尿中マイクロ RNA には、そのヒトの生活習慣（喫煙・飲酒など）に関与するマイクロ RNA が多く含まれ、ヒトによって 1,300 種類の内訳が異なることが明らかとなりました。この結果、ヒト種として尿中に含まれるマイクロ RNA 種類数が 2,000 種以上あることが分かりました。

次に、尿中マイクロ RNA 種類数が血液中のマイクロ RNA 種類数と同程度であることが明らかとなったため、尿中のがん関連マイクロ RNA アンサンブルを機械学習解析

で構築しました。最初にがん患者（100 人）と非がん患者（100 人）から抽出・解析した尿中マイクロ RNA データを用い、200 人の尿中マイクロ RNA データの機械学習解析を行うことで、がん患者と非がん患者を識別可能な尿中マイクロ RNA アンサンブルを構築しました。この構築した尿中マイクロ RNA アンサンブルを用い、構築時に用いなかったがん患者と非がん患者の尿中マイクロ RNA が、がん患者・非がん患者のどちらの尿中マイクロ RNA パターンと近しいかを識別できることが分かりました（感度 98.2%、特異度 96.5%）。さらに、がん患者の尿中マイクロ RNA の機械学習解析を用いて構築した尿中マイクロ RNA アンサンブルを用い、早期がん患者（ステージ I）の識別を行なったところ、AUROC が 0.987 で早期がん患者（ステージ I）を識別できました。

●社会的インパクト

今回の研究では、がんの種類（肺がん・脳腫瘍）ごとにマイクロ RNA アンサンブルが異なることが分かりました。これは、各種がんが活動する時の生物学的プロセスが異なっていることと関連しています。各種がんに関連するマイクロ RNA アンサンブルを構築することで、尿のマイクロ RNA アンサンブルを使ったがんの早期発見による安全・安心な社会の実現に貢献できると考えています。

●今後の展開

今回の研究では、肺がん・脳腫瘍・非がんの 3 者の識別だけではなく、肺がん・大腸がん・子宮内膜がん・腎がん・白血病・リンパ腫・膵がん・前立腺がん・胃がん・尿路上皮がん・非がんの 11 者の識別の可能性も見えてきています。がん種の拡大のみならず、がんの発症前後のマイクロ RNA アンサンブルの比較などを経て、がん早期発見を確かなものとする技術開発へと進展させていきたいと考えています。

●付記

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）助成金番号 JP21he2302007、AMED ムーンショット研究開発プログラム（助成金番号 22zf0127004s0902、JP22zf0127009）、新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）JPNP20004、科学技術振興機構（JST）AIP 加速研究（JPMJCR23U1）、日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究（A）JP24H00792 の助成を受けて実施されたものです。

【用語説明】

- (1) **エクソソーム**：全ての細胞が放出する微粒子（直径 40-200 nm 程度）であり、細胞と細胞がコミュニケーションする時の情報伝達物質として体内で機能する物質。
- (2) **マイクロ RNA**：2024 年のノーベル生理学・医学賞の受賞につながった物質。マイクロ RNA はたんぱく質を作らない RNA であるが、細胞や生体を制御して

いることが明らかとなっている。がん細胞が放出するエクソソームに含まれるマイクロ RNA は体内のがんに関連するサインであると考えられている。

- (3) **ナノワイヤ**：1 次元のナノ構造体。直径が数 10-100 nm、長さが 1-10 μm のナノメートルスケールのハリやワイヤーのような構造体。
- (4) **マイクロ RNA アンサンブル**：がんに関連する生命現象には複雑な生物学的プロセスが含まれているため、各種のがん生命現象に関連するマイクロ RNA は、1 種ではなく複数種のマイクロ RNA が組み合わせられ、マイクロ RNA の組み合わせ（マイクロ RNA アンサンブル）となる。
- (5) **感度と特異度**：感度は疾患を持った人のうちその所見がある人の割合を示し、特異度は疾患を持たない人のうちその所見がない人の割合を示す。感度の計算式は、 $(\text{真陽性}) / (\text{真陽性} + \text{偽陰性})$ となる。また、特異度の計算式は、 $(\text{真陰性}) / (\text{偽陽性} + \text{真陰性})$ となる。
- (6) **AUROC**：Area Under the Receiver Operating Characteristics Curve の略称。機械学習における AUROC とは、主に二値分類に対する評価指標の一つとなる。AUROC は邦訳すると、「ROC (受信者操作特性) 曲線の下面積」を意味する。この指標は、1.0 に近いほどモデルの予測性能が高いことを示す。例えば機械学習モデルによる予測が全て正解であった場合、AUROC 値は 1.0 となる。また、AUROC 値が 0.5 の場合は、機械学習モデルによる予測がランダムな推測と同等であることを示す。

【論文情報】

掲載誌：*Analytical Chemistry*

論文タイトル：Early cancer detection via multi-microRNA profiling of urinary exosomes captured by nanowires

著者：Yasui, Takao; Natsume, Atsushi; Yanagida, Takeshi; Nagashima, Kazuki; Washio, Takashi; Ichikawa, Yuki; Chattrairat, Kunanon; Naganawa, Tsuyoshi; Iida, Mikiko; Kitano, Yotaro; Aoki, Kosuke; Mizunuma, Mika; Shimada, Taisuke; Takayama, Kazuya; Ochiya, Takahiro; Kawai, Tomoji; Baba, Yoshinobu

DOI：10.1021/acs.analchem.4c02488

【研究者プロフィール】

安井 隆雄（ヤスイ タカオ） Takao YASUI

東京科学大学 生命理工学院 生命理工学系 教授

研究分野：生命分析化学