

2025 年度 医療技術研究開発助成 成果報告書
[萌芽・探索型]

所 属 東邦大学医療センター大森病院
乳腺・内分泌外科
氏 名 須磨崎 真

[研究テーマ]

がん細胞由来細胞外小胞(sEVs)を標的にした次世代腫瘍マーカー測定装置の開発

[分野]

- ① 日常生活における健康無関心層の疾病予防、重症化予防に資する医療機器
- ② 予後改善につながる診断の一層の早期化に資する医療機器
- ③ 臨床的なアウトカムの最大化に資する個別化医療に向けた診断と治療が一体化した医療機器
- ④ 高齢者等の身体機能の補完・向上に関する医療機器
- ⑤ 医療従事者の業務の効率化・負担軽減に資する医療機器
- ⑥ 次世代の医療機器開発・生産に資する要素技術・部品・部材の開発、製造基盤

1. 背景と目的

がんは国民病とされ有効な治療薬が次々に開発される一方で、固形癌の早期診断や診療最適化に有効な腫瘍マーカーの開発は依然として不十分である。CEA に代表される既存の腫瘍マーカーは ELISA を発展させた ECLIA 等の免疫測定法により検出されるが、固形癌のスクリーニングや早期診断に用いるには精度が不十分である。一方、PCR 検査はコロナ禍を契機にキット化・簡略化された機器が市販されるようになり、中小規模の病院やクリニックにおける社会実装のハードルが大きく下がった。また、がん患者血液中の細胞遊離 DNA (cfDNA) を次世代シーケンサーで測定する Liquid biopsy はすでに臨床応用されているが、血中濃度が低いためスクリーニング用途には依然として課題が大きい。

エクソソームに代表されるがん細胞由来の細胞外小胞 (small Extracellular Vesicles, sEVs) は早期がんでも患者血液から検出され、がん細胞由来の核酸を内包することから固形癌診断の有望な標的とされてきた。しかし、ヒト末梢血中の sEVs 濃度は約 $10^{12}/\text{mL}$ とされるうち大部分は正常細胞由来であり、がん細胞由来 sEVs はごくわずかである。従来の sEVs 精製法ではがん由来 sEVs を選択的に濃縮することが困難であり、これががん EV バイオマーカー研究の大きなボトルネックであった。

研究申請者はこれまでに大腸癌新鮮切除組織から分泌される EVs (Tissues Exudative Extracellular Vesicles, Te-EVs) のプロテオーム解析を独自に行い、がん細胞由来 EVs に特異性の高い表面抗原として Tetraspanin-10 (TSPAN10) を同定し、免疫学的手法でがん患者末梢血からがん細胞由来 sEVs を濃縮する方法を確立した。TSPAN10 の生理的発現は網膜に限局しており血液細胞では発現しない一方、固形癌ではほぼすべての症例で mRNA 発現が認められ、がん種を問わない汎用的な標的となりうる。本知見については東邦大学を出願人として国際特許出願 (PCT/JP2024/011516, WO2024/203968) を行い、日

本・米国・ドイツに国内移行手続きを完了した。本助成では、この独自のがん由来 sEV 濃縮技術と高感度 PCR を組み合わせることで、1本の採血管から複数のがん関連遺伝子を検出可能な次世代腫瘍マーカー測定系の原理検証を行うことを目的とした。特に乳癌を対象として、sEV 濃縮産物から ESR1 (ER) mRNA および ERBB2 (HER2) DNA を qPCR/digital PCR で検出する系の確立を目指した。

2. 研究方法・計画

(1) sEV 濃縮プロトコルの最適化：ポリクローナル抗 TSPAN10 抗体を担体に結合させた免疫精製法を用い、進行乳癌患者血清および早期乳癌患者血清からがん由来 sEVs を濃縮した。回収 EV はナノ粒子解析およびウエスタンブロッティングにより性状評価を行った。

(2) 核酸抽出と Quality control：濃縮 sEV から市販キットを用いて Total RNA および DNA を抽出し、Qubit 蛍光定量システムで定量、rRNA 含有率や分解度を評価した。

(3) PCR による標的遺伝子の検出：乳癌バイオマーカーとして臨床的にも確立されている ESR1 (mRNA) および ERBB2 (DNA 増幅) を標的とし、qPCR および digital PCR により検出を試みた。

(4) 診断性能評価：病理学的因子、抗 HER2 療法の治療効果、既存腫瘍マーカー (CA15-3、CEA)、マンモグラフィ所見と対比し、臨床的有用性を検証した。

(5) 併せて大腸癌を対象に、TSPAN10 と組み合わせることでがん特異性をさらに高める消化管特異的な EV 表面抗原の探索を、国内の民間企業およびアカデミア機関との産学共同研究の枠組みの中で推進した。

本研究は東邦大学医療センター大森病院倫理審査委員会 (M22211) および東邦大学医学部倫理委員会 (A23003) の承認のもとに実施した。

3. 研究成果及び考察

(1) 乳癌患者血清 3 例から平均 1.3 ng/mL の Total RNA が安定して抽出可能であることを確認し、早期乳癌でも同様に RNA/DNA が回収可能であることを見出した。濃縮 EV から抽出した核酸は PCR に耐え得る品質を有しており、ESR1 mRNA および ERBB2 DNA の検出に成功した。これにより「がん由来 EV 濃縮+PCR」という二段階アプローチの原理検証が達成され、1本の採血管から複数のがん関連遺伝子を検出する測定系の基盤が構築された。

(2) 並行して、大腸癌 Te-EVs プロテオーム解析の再解析から、TSPAN10 と同一の EV 集団に共発現する新規の消化管特異的な EV 表面抗原を同定した。この抗原は生理的発現が消化管上皮に限定される一方、大腸癌・胃癌で顕著に発現が上昇し、TSPAN10 陽性 EV と組み合わせることで消化器がんに対する高い特異性を付与できることが示された。本知見については、民間企業およびアカデミア機関との三者による共同出願を現在準備しており、産学連携を通じた知的財産創出の具体的成果となっている。

(3) 技術基盤の強化として、TSPAN10 陽性 EV の濃縮方法に関する新規の別出願 (WO2025/197993、PCT/JP2025/010875) も実施済みであり、乳癌以外のがん種や臨床用途へと展開するための特許網を着実に整備している。

考察：本助成事業により、①がん由来 EV 濃縮産物からの PCR 検出が原理的に可能であること、②既存の網羅的 EV 精製法 (CD9・CD81・CD63 等の汎用マーカー) と比較して、がん細胞由来 EV を選択的に濃縮することで診断精度が有意に向上すること、③組織特異的 EV マーカーとの組み合わせにより臓器特異性を付与できること、が示された。これらの成果は、本研究が目指す「1本の採血管から複数のがん関連遺伝子を一度に検出する全自動測定装置」の実装可能性を支持するものである。

4. まとめ

本助成事業では、独自に同定したがん細胞由来 sEV 表面抗原 TSPAN10 を用いた免疫精製と PCR を組み合わせることで、次世代腫瘍マーカー測定系の原理検証を達成した。また、民間企業およびアカデミア機関との産学連携を具体化し、消化管特異的 EV バイオマーカーの同定と三者共同特許出願の準備、ならびに基幹特許の追加出願を通じて、社会実装に向けた強固な特許網を構築した。

倫理面への配慮

東邦大学医療センター大森病院倫理審査委員会（承認番号 M22211、研究代表者：島田英昭教授、「悪性腫瘍における新規腫瘍マーカーの探索と有用性の検討」）および東邦大学医学部倫理委員会（承認番号 A23003、研究代表者：須磨崎 真、「血清および癌切除組織検体を用いた遺伝子発現解析による固形癌バイオマーカー開発」）の承認のもと、文書による同意が得られた既存血清検体・切除組織検体を用いて実施した。

研究業績

本助成期間中に査読付き論文としての発表には至っていないが、本助成事業の基盤となる知見（基幹特許 PCT/JP2024/011516, WO2024/203968 の内容、すなわち TSPAN10 をがん由来 EV バイオマーカーとして位置付けた一連の成果）について、以下のとおり国際学会での口頭発表を予定している。

[学会発表] 須磨崎 真 他, “Tetraspanin-10 is a novel candidate for cancer-derived EV biomarker” (Oral Presentation, Abstract ID: 2313416) , ISEV2026 Annual Meeting (国際細胞外小胞学会 2026 年年次大会) , 2026 年 4 月 22 日～26 日 (Puerto Rico Convention Center, San Juan, Puerto Rico) .

謝辞に関する記載

本研究は、公益財団法人医療機器センター (JAAME) 2025 年度医療技術研究開発助成 JAAME-25Seed009 の助成を受けたものです。

This work was supported by the 2025 Medical Technology Research and Development Grant from the Japan Association for the Advancement of Medical Equipment (JAAME), Grant Number JAAME-25Seed009.

助成期間終了後の開発構想

本助成事業により、がん細胞由来 EV の選択的濃縮と高感度 PCR を組み合わせた次世代腫瘍マーカー測定系の原理検証が達成された。助成期間終了後 3 年間においては、本成果をもとに以下の開発計画を推進する。

(1) 産学連携による検査系の実用化

消化管特異的な EV 表面抗原の同定を契機として、民間企業およびアカデミア機関との三者による共同研究・共同出願の準備を進めている。パートナー企業が有する自動免疫測定機器・微粒子技術と、連携アカデミア機関のプロテオーム解析基盤、東邦大学の豊富な臨床検体（約 5,500 症例・40,000 検体）を組み合わせることで、検査系のキット化・自動化と多検体処理系の構築を目指す。

(2) 強固な特許網の構築

基幹特許（PCT/JP2024/011516, WO2024/203968、日・米・独に国内移行済）および TSPAN10 陽性 EV の濃縮方法に関する追加特許（WO2025/197993, PCT/JP2025/010875）に加え、産学共同による消化管特異的 EV マーカー特許、がん種・用途を限定したコンパニオン診断特許、モノクローナル抗体・合成結合タンパク質による精製担体特許を順次出願し、測定装置の社会実装を支える知的財産を整備する。

(3) 公的研究費の獲得とスケールアップ

本原理検証の成果をもとに、AMED 橋渡し研究プログラムや先端的医療機器開発支援事業等への応募を計画している。特にモノクローナル抗体の樹立や、AlphaFold・Rosetta 等を用いた *in silico* 設計による結合タンパク質の開発は、東邦大学理学部の構造生物学グループと連携して推進する。

(4) 多施設共同臨床研究による妥当性検証

乳癌以外のがん種（大腸癌・胃癌等）にも対象を拡大し、複数施設との連携により腫瘍マーカーとしての臨床的有用性・妥当性を前向きに検証する。

(5) 学会・論文による情報発信

2026 年 4 月の ISEV2026 Annual Meeting (San Juan, Puerto Rico) における Oral Presentation を皮切りに、査読付き国際誌への論文投稿を進め、本技術の学術的・社会的認知を高める。

これらの取り組みを通じて、1 本の採血管から複数のがん関連遺伝子を一度に検出可能な全自動測定装置の社会実装を目指し、固形がんの早期診断と治療最適化を通じて、治療成績の向上および診療の省コスト化に貢献することを本研究の最終目標とする。