

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19374

研究課題名（和文）自閉症児父親由来血漿エクソソームを用いた自閉症予測診断および病態発症機構の解析

研究課題名（英文）Role of plasma-derived exosomes from fathers of autistic children for the diagnosis and etiology of autism spectrum disorder

研究代表者

星野 歩子（Hoshino, Ayuko）

東京工業大学・生命理工学院・准教授

研究者番号：00819964

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：発達障害のひとつである自閉症は、生まれつきの脳の機能障害が原因だと考えられているが、その詳細は未だ解明されていない。本研究では、父由来血漿エクソソームがバイオマーカーとして有用であるかの検討を行い、一見関連のなさそうな父親の血漿中エクソソームに着目することで自閉症の遺伝的要因・環境的要因に迫ることを目指した。本研究で自閉症児父の血漿中エクソソームに含まれるタンパク質組成は定型発達児の父由来と大きく異なることを見出した。また、そこには特定の体内状態を反映するようなシグネチャーが見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉スペクトラム症はアメリカ疾病予防管理センターの報告によると2018年には59人に1人の子供が罹患しているとされ、2020年には36人に1人と言われている増加傾向にある神経発達障害である。自閉スペクトラム症の遺伝子変異は極めて多様であり病態を引き起こす原因遺伝子は解明されていない。また、定量的な診断方法も開発が望まれている。本研究により、自閉スペクトラム症の子供を持つ父親の血中エクソソームを解析することで、その遺伝的要因および環境的要因に迫り、血液を用いた定量的な診断方法の開発に繋がる研究を遂行することができた。

研究成果の概要（英文）：Autism spectrum disorder, one of the developmental disorders, is thought to be caused by brain dysfunction from birth, but the details of the disorder have not yet been elucidated. In this study, we aimed to examine whether father-derived plasma exosomes differ and could be a potential biomarker for detecting autism spectrum disorder. We found that by performing proteomics analysis on plasma exosomes, the protein composition of the plasma-derived exosomes of fathers with autistic children differed significantly from that of fathers with neurotypical children, and the specific pathway signature found through exosome analysis suggested a specific internal body state.

研究分野：疾患生物学

キーワード：エクソソーム 自閉スペクトラム症 プロテオミクス 機械学習

1. 研究開始当初の背景

自閉症はアメリカ疾病予防管理センターの報告によると 2018 年では、59 人に 1 人の子供が罹患しているとされ、2020 年では 36 人に 1 人と言われ、年々増加傾向にある神経発達障害である。自閉症の遺伝子変異は極めて多様であり病態を引き起こす原因遺伝子は解明されていない。また、遺伝子だけでなく環境因子も病態に関わるという見解が有力であり、近年胎仔期に母体が妊娠糖尿病や妊娠高血圧症にかかると胎児が自閉症を発症する確率が上がるとされる報告もあるが、実際にはその因果関係や機構は明らかにされていない。同時に、自閉症児はニューロンの機能障害や形質変化等があると報告はあるが、どの様にしてその現象が起きるのか病因についての分子機構も未だ解けていない。申請者はこれまでに、コントロールに比べて自閉症児のエクソソームは脳関門を通過して脳内へ取り込まれやすいことを見出している。さらに、エクソソームはそのタンパク質組成により体内状況を詳細に反映していること (Hoshino *et al.*, *Cell* 2020)、さらに血漿中のエクソソームはランダムに取り込まれるのではなく、特異的な相互作用がある細胞にのみ取り込まれ、細胞内に特定のシグナルを与えることを既に報告してきている (Hoshino *et al.*, *Nature* 2015)。本研究では未だ解析されていない自閉スペクトラム症児の父親の血漿由来エクソソームについて知識を深めていく。一見関連のなさそうなエクソソームに着目することで自閉症の遺伝的・環境的要因に迫り胎児期の自閉症発症機序について理解が深まると考えている。

2. 研究の目的

発達障害のひとつである自閉症は、生まれつきの脳の機能障害が原因だと考えられているが、その詳細は未だ解明されていない。本研究目的の事前データとして、自閉症児と健常児の母のエクソソームに含まれるタンパク質の組成が大きく異なることを見出し、母由来のエクソソームを妊娠マウスへ投与するとその仔マウスは自閉症様行動を示すこともわかった。この現象は、健常児母由来エクソソーム投与群では観察されないことから、自閉症児母由来エクソソームに含まれる因子が母体内で胎児の脳発育へ影響を与えていることを示唆させるデータである。では父親のエクソソームタンパク質組成はどうであろうか。異なる場合には、子供が自閉症となる予測分子として使用することはできるのか。本研究では父由来血漿エクソソームがバイオマーカーとして有用であるかの検討、そのエクソソームが仔マウスの自閉症様行動を誘発する機能を有しているかについて解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究により、自閉症の病態を引き起こすのは母由来のエクソソームだけでなく、父由来のエクソソームでも誘発される可能性の検討が行われる。自閉症児父と定型発達児の父由来エクソソームのプロテオミクス解析をまず行い、それぞれがクラスターされるかどうかについて検討を行う。さらに、父由来エクソソームはその家族構成の中で母と子供のエクソソームとどの程度似ているのかなども検討を行う。さらに、それぞれのエクソソームを妊婦マウスへ投与し、仔マウス

スにおいて自閉症様行動が見られるかについて検討を行う。見られた場合にはエクソソーム含有分子の中で自閉症児の父と母で共通なものをターゲットとした中和抗体やペプチドを用いた実験を検討し、仔マウスの自閉症様行動の抑制が観察されるかを調べる。妊娠マウスへ父親由来のエクソソームを投与することは生理学的に不自然である様に思うが、現在自閉症の発症は遺伝と環境因子の両方が寄与すると考えられており、父親のエクソソーム投与により仔マウスの自閉症発症が観察される場合には環境因子としてエクソソーム変化が自閉症発症の引き金の一つとなっている可能性を示唆できる検討となる。

また、父親由来エクソソームの解析により子供の自閉症発症を予測するための分子同定を検討するためにプロテオミクス解析を行い機械学習により最も信頼度の高い分子群を決定する。

4. 研究成果

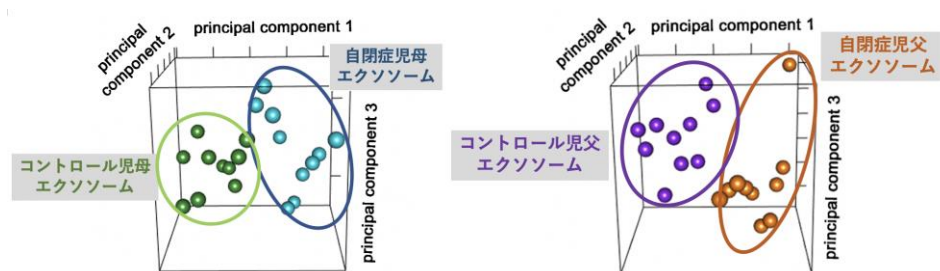


図 1 自閉症およびコントロール児の親由来エクソソームはプロテオミクス解析によりそれぞれ 2 群に分類される。

申請者はこれまで、がん転移先がどの様に規定されており、どんな変化が未来転移先で起きているの

か、そのコミュニケーションツールとして「エクソソーム」と呼ばれる細胞外小胞に焦点を当てた研究を行ってきた。また、申請者は 400 以上のヒト由来細胞株、手術組織、血漿、血清、骨髄液、等幅広いサンプルからエクソソームを回収し網羅的にプロテオミクス解析を行い、如何なる組織由来のエクソソームにも対応できるマーカーを解明し、さらに、がん患者のエクソソームマーカーを見出し、患者由来血漿エクソソームをがん種別に分類することができ、原発不明がんの特定にも期待できることを報告している。本研究では、発達障害のひとつである自閉スペクトラム症に着目し、父由来血漿エクソソームがバイオマーカーとして有用であるかの検討、およびそのエクソソームが仔マウスの自閉症様行動を誘発する機能を有しているかについて解明することを目指してきた。これまでに、自閉症児母由来エクソソームは定型発達児の母由来とその含有タンパク質の組成が大きくことなることをプロテオミクスにより明らかにしてきたが、今回、父親の血漿由来エクソソームについても解析すると、その含有タンパク質量が少ない傾向がみられ、さらに、エクソソーム含有分子の違いを解析すると、自閉症児の父親と定型発達の父親でそのシグネチャーが異なることがわかった (図 1)。これらのエクソソームが神経細胞やグリア細胞へ影響を与えうるのかについて検討を行うため、マウス脳から神経細胞およびグリア細胞を培養しエクソソームを添加した結果、特定の細胞集団でのみ取り込み量に違いが見られた。自閉

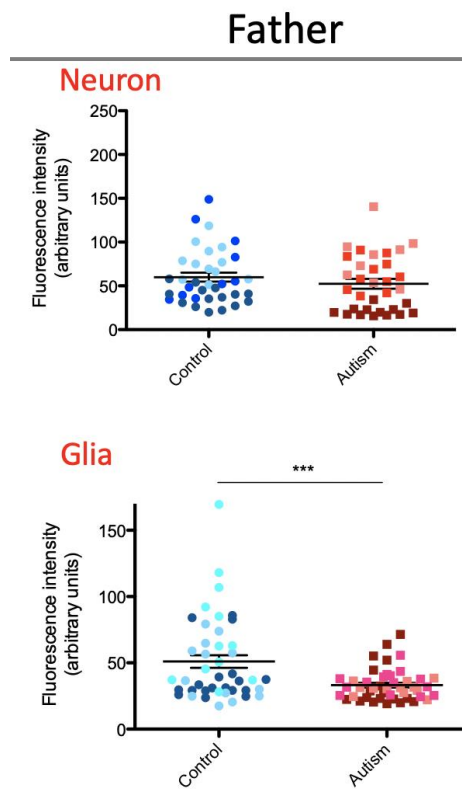


図 2 自閉症および定型発達児の父由来エクソソームはマウス海馬由来ニューロンおよびグリアに取り込まれるが、取り込まれる量がグリアにおいて異なる。

症児の父および定型発達児の父由来エクソソームは共にニューロンへの取り込みはあまり高くなく、そこには差が見られなかった (図 2 上)。しかし、グリア細胞における取り込みは、興味深いことに自閉症児を持つ父親由来のエクソソームの方が少ないことがわかった (図 2 下)。このことから、取り込み細胞の指向性があり、それはすなわちエクソソーム含有物の組成が異なり、取り込み細胞へ与える影響も異なることが示された。

さらに、マウスへの投与実験により、エクソソームにおける性差の重要性が示唆されるデータが得られた。また、父由来エクソソームは母由来エクソソームとは妊婦マウスへの挙動がことなることもわかった。これらの結果により、自閉スペクトラム症の父由来エクソソームには特定のシグネチャーがあること、そしてそのエクソソームには特定の細胞へ取り込まれる機能およびその際に特異的な変化を取り込み細胞へ与える可能性などが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Khan I, Gril B, Hoshino A, Yang HH, Lee MP, Difilippantonio S, Lyden D & Steeg PS.	4. 巻 39(5)
2. 論文標題 Metastasis suppressor NME1 in exosomes or liposomes conveys motility and migration inhibition in breast cancer model systems.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical & Experimental Metastasis	6. 最初と最後の頁 815-831
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10585-022-10182-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Suwathanarak T, Ito K, Tanaka M, Sugiura K, Hoshino A, Miyamoto Y, Miyado K, Okochi M.	4. 巻 146
2. 論文標題 A peptide binding to the tetraspanin CD9 reduces cancer metastasis.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomaterials Advances	6. 最初と最後の頁 213283
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bioadv.2023.213283.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nasiri Kenari A,... , Hoshino A	4. 巻 2628
2. 論文標題 Protocol for Plasma Extracellular Vesicle and Particle Isolation and Mass Spectrometry-Based Proteomic Identification	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Serum/Plasma Proteomics: Methods and Protocols	6. 最初と最後の頁 291-300
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-2978-9_19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hashimoto A, Sugiura K, Hoshino A	4. 巻 169
2. 論文標題 Impact of exosome-mediated feto-maternal interactions on pregnancy maintenance and development of obstetric complications	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 163-171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvaa137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計34件（うち招待講演 34件 / うち国際学会 24件）

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質によるがん転移機構と診断バイオマーカーの解析
3. 学会等名 一般社団法人日本女性科学者の会贈呈式、記念講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質から解析する転移機構と診断バイオマーカー
3. 学会等名 長崎県産科婦人科学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Tumor exosomal proteins in metastasis and detection
3. 学会等名 Japan - Singapore - ASDR Webinar Series 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質から解析する、前転移ニッチ形成機構と診断マーカー
3. 学会等名 第30回乳癌基礎研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosome proteins in disease etiology and detection ~Exosomes, new players in the field of metastasis~
3. 学会等名 Women and Future in Science Seminar@RIKEN BDR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 SOURCE IDENTIFICATION FOR EXOSOMAL COMMUNICATION VIA PROTEIN LANGUAGE MODELS
3. 学会等名 IEEE International Workshop on Machine Learning for Signal Processing (MLSP) conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 細胞が発信するSNS「エクソソーム」を解明し様々な疾患の病態解明に挑戦中！
3. 学会等名 タケダR&D Science Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソームを介した臓器連関：病態寄与機構と疾患バイオマーカー解析
3. 学会等名 大阪大学ニコンイメージングセンターシリーズセミナー (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質：臓器特異的転移と診断バイオマーカー
3. 学会等名 日本薬剤学会・超分子薬剤学FGシンポジウム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomes, new players in the field of metastasis エクソソームが司る、がん転移の新しいストーリー
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomes, new players in the field of metastasis ~ mechanistic insights and biomarker potential ~エクソソームが切り拓く疾患生物学：がん転移機構と診断バイオマーカー
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Elucidating exosome-driven cancer progression for the development of novel treatments and diagnosis
3. 学会等名 （一財）バイオインダストリー協会 広報部 大賞・奨励賞事務局（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 細胞が発するメッセージを読み解く未来：エクソソームが司る、がん転移の新しいストーリー
3. 学会等名 鳥取県産業技術センター 公設試等女性研究者技術交流会 in とっとり (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 細胞が発するメッセージを読み解く未来【エクソソームが司る、がん転移の新しいストーリー】
3. 学会等名 群馬大学医学部附属病院 地域医療研究・教育センター ダイバーシティ推進センター総括シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 がんの転移先を決めるナノサイズメッセンジャー #エクソソーム #体のSNS
3. 学会等名 名古屋大学 特徴あるプログラム「オミクス解析学」講義 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Extracellular Vesicles and Their Roles in Development and Disease
3. 学会等名 cell Bio 2022 washington convention center (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomal proteins in cancer: Roles in cancer metastasis and biomarker potential
3. 学会等名 12th AACR-JCA Joint Conference: Breakthroughs in Cancer Research: Translating Knowledge into Practice (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソームが切り拓く疾患生物学
3. 学会等名 サイエンステクノフロンティアフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソームを介した臓器連関：病態寄与機構とバイオマーカー解析
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会学術研究委員会企画シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Cancer exosomal proteins: Roles in pre-metastatic niche formation and biomarker potential
3. 学会等名 日本プロテオーム学会招待講演 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソームによる病態寄与機構と疾患バイオマーカーの解析
3. 学会等名 第7回生体調節研究所・内分泌代謝シンポジウム(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 がんにおけるエクソソーム含有タンパク質：転移寄与分子と診断バイオマーカーの解析
3. 学会等名 第三回 形態解析ワークショップ(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 細胞が発するメッセージを読み解く未来【人体のSNS#エクソソーム】
3. 学会等名 フロンティアサロン永瀬賞授賞式・特別講義サイエンスセミナー(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質によるがん診断と転移促進機構
3. 学会等名 EXPERT MEETING in Metastasis Research(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 腫瘍関連エクソソームのプロテオミクスから解析する転移機構と診断バイオマーカー
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本 彩子、志村 日向子、星野 歩子
2. 発表標題 妊娠高血圧症候群の病態における胎盤由来エクソソームの役割と血漿由来エクソソームのサブポピュレーションの解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 がん関連エクソソームのプロテオミクス：転移機構とバイオマーカーの解析
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 細胞が発するメッセージを読み解く未来【エクソソームが司る、がん転移の新しいストーリー】
3. 学会等名 シスメックス イノベーションフォーラム2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomal proteins in disease etiology and detection
3. 学会等名 京都大学医学研究科ヒト・システム生物学セミナー講演（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソーム含有タンパク質が司る臓器特異的転移と診断バイオマーカー
3. 学会等名 第9回日本腎臓研究会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomal proteins in disease etiology and detection ~Exosomes, new players in the field of metastasis~
3. 学会等名 2022 CiRA Symposium, Advancing iPS Cells Through Collaboration（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 エクソソームを介した臓器連関：がん転移機構と診断バイオマーカー
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 Exosomes, new players in the field of metastasis
3. 学会等名 熊本大学 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野歩子
2. 発表標題 がんの転移先を決めるナノサイズメッセンジャー #エクソソーム #人体のSNS
3. 学会等名 文部科学省主催「サイエンス・カンファレンス」(招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 志村日向子, 川口万太郎, 星野歩子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 4
3. 書名 Clinical Neuroscience	

1. 著者名 瀨崎祐斗, 杉浦圭, 星野歩子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 公益社団法人 日本薬学会	5. 総ページ数 5
3. 書名 ファルマシア	

1. 著者名 本城麻衣, 正古悠一, 星野歩子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 鳥居薬品株式会社	5. 総ページ数 10
3. 書名 感染・炎症・免疫	

1. 著者名 橋本彩子, 濱崎祐斗, 星野歩子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 6
3. 書名 実験医学増刊 Vol.39 No.12 がん微小環境に1細胞レベルで挑む	

1. 著者名 杉浦圭, 志村日向子, 星野歩子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 8
3. 書名 BRAIN and NERVE Vol.73 No.8 2021年 08月号特集 脳腸相関 脳-身体の双方向性制御	

1. 著者名 橋本彩子, 佐藤美香, 星野歩子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 7
3. 書名 実験医学増刊 Vol.39 No.20 EVs 細胞外小胞の生物学	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 マイクロウェルアレイ, その製造方法, 及び単一細胞由来エクソソームの解析方法	発明者 星野歩子	権利者 東京工業大学、 学校法人慶應義 塾
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-158454	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------