

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10608

研究課題名(和文) 前立腺癌患者における循環血中癌細胞の特性解析と癌転移動態の分析

研究課題名(英文) Characterization of circulating blood cancer cells and analysis of cancer metastasis kinetics in patients with prostate cancer

研究代表者

桶川 隆嗣 (Okegawa, Takatsugu)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：70306679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：末梢循環細胞癌(CTC)クラスターにおけるandrogen receptor splice variant 7 (AR-V7)が、アピラテロンまたはエンザルタミドで治療された骨転移性去勢抵抗性前立腺癌患者98症例のPSA progression-free survival (PSA-PFS), radiological progression-free survival (rPSF), overall survival (OS)の予測因子であった。CTC clustersでのAR-V7は、アピラテロンまたはエンザルタミド治療での疾患の転帰を予測できることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We retrospectively enrolled 98 patients with bone metastatic castration resistant-prostate cancer (mCRPC) on abiraterone or enzalutamide, and investigated the prognostic value of circulating tumor cell (CTC) cluster detection (+ v -) and androgen receptor splice variant 7 (AR-V7) detection (+ v -) using a CTC cluster detection - based AR-V7 mRNA assay. We examined prostate-specific antigen (PSA) progression-free survival (PSA-PFS), clinical and radiological progression-free survival (radiologic PSF), and overall survival (OS). On multivariable analysis, pretherapy CTC cluster(+), CTC cluster(+)/AR-V7(+), and ALP >UNL were independently associated with a poor PSA-PFS, radiographic PFS, and OS in abiraterone-treated patients and enzalutamide-treated patients. The CTC clusters and AR-V7-positive CTC clusters detected were important for assessing the response to abiraterone or enzalutamide therapy and for predicting disease outcome.

研究分野：泌尿器腫瘍

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 末梢循環細胞癌 アンドロゲン受容体スプライスバリエント

1. 研究開始当初の背景

がん領域では、多くの分子標的薬が開発され、どのような患者さんが使用に値するかを診断するコンパニオン診断が開発されてきた。コンパニオン診断には、がん組織を生検で採取し、分子標的薬の標的となる遺伝子異常やそれに基づくたんぱく質の発現を PCR 法、免疫組織染色法、FISH などを用いている。しかし、生検は、侵襲が大きくて、部位によっては不可能である場合がある。血中にはがん細胞由来の物質があるので、血液を生検して調べようというのが、liquid biopsy である。Liquid biopsy は「腫瘍などの生体組織の一部を採取して行っていた生検と同等の性能かつ患者に負担の少ない検査を血液や体液で分子遺伝学的に解析技術を組み合わせることで実現するもの」と定義されている。この Liquid biopsy は Precision Medicine の実現に役に立つと期待されているが、課題も多い。

癌の病態形成において最も重要な因子の一つである転移に関する動態解析の重要度は高い。ヒトの固形癌における転移の評価はこれまで画像診断を中心に行われてきたが、循環血中癌細胞 (circulating tumor cell: CTC) や骨髄微小転移の検索により、転移細胞の細胞特性を解析し、転移の動態を個体レベルで計量的に分析することが可能になった。特定の細胞を分離する技術として、セルソーターがある。CTC は異なる癌種の患者で幅広く検出され、CellSearch System で特に高率に検出されたのは転移性前立腺癌であった。しかし、転移があるにもかかわらず CTC (陽性: 血液 7.5mL 中 2 個以上) 陽性率は 57% のみである。この System では EpCAM 抗体の弱い腫瘍細胞や間葉系腫瘍細胞において検出率の低下が考えられる。また、分離細胞のダメージや無菌的な細胞分離ができないなどの課題を有している。今後のオーダーメイド治療を考えるとダメージフリーで捕捉できた癌細胞の遺伝的解析が不可欠であると考えられる。

2. 研究の目的

我々は、CellSearch System のこれらの欠点を克服するためにマイクロ流路チップを用いたセルソーターの “On-chip Sort” の開発を行なった。このマイクロ流路チップを用いたセルソーターを用いることにより CTC を測定し、さらに無菌・ダメージフリーで捕捉することが可能となった。捕捉した前立腺癌細胞の遺伝的解析と、治療効果、予後予測可能かについて解析した。

3. 研究の方法

CTC や CTC クラスターにおけるアンドロゲン受容体スプライスバリエント 7 (AR-V7) が、アピラテロンまたはエンザルタミドで治療された骨転移性去勢抵抗性前立腺癌 (mCRPC) 患者の治療効果や予後予測因子であるか検討した。mCRPC 患者 98 例を abiraterone または enzalutamide 治療前に、CTC からの AR-V7

mRNA アッセイを用いて、CTC クラスター検出 (+ v -) および AR-V7 検出 (+ v -) の予後値を調べた。我々は、PSA 無増悪生存期間 (PSA-PFS) 臨床および放射線無増悪生存期間 (rPSF) および全生存期間 (OS) を調べた。

オンチップマルチイメージングフローサイトメトリーは交換型チップ内にマイクロ流路を形成し、約 0.1 気圧以下の圧力で流す細胞にレーザー照射により散乱光と蛍光で目的細胞を検出する。目的細胞がソーティング領域を通過するタイミングで、陽圧と陰圧の空気ポンプと連結した電磁バルブを短時間開放することで、目的細胞に対して Push/Pull 方式で局所的にパルス流を発生して取り込む。

4. 研究成果

(1) mCRPC 患者 98 例のフォローアップの中央値は、は 20.7 (範囲: 3.0~37.0) ヶ月であった。

(2) CTC クラスター (-) は 98 例中 49 例 (50.0%)、CTC クラスター (+) / AR-V7 (-) は 98 例中 23 例 (23.5%)、98 人例 26 例 (26.5%) は CTC クラスター (+) / AR-V7 (+) であった。

(3) PSA 奏功率は CTC クラスター (-) は 49 例中 39 例 (79.6%)、CTC クラスター (+) / AR-V7 (-) は 23 例中 10 例 (43.5%)、CTC クラスター (+) / AR-V7 (+) は 26 例中 4 例 (15.4%) であった。

(4) PSA progression-free survival (PSA-PFS) の中央値は、CTC クラスター (-) で未到達、CTC クラスター (+) / AR-V7 (-) で 11.5 ヶ月、CTC クラスター (+) / AR-V7 (+) で 9.5 ヶ月であった。

(5) Radiological progression-free survival (rPSF) の中央値は、CTC クラスター (-) で未到達、CTC クラスター (+) / AR-V7 (-) で 17.0 ヶ月、CTC クラスター (+) / AR-V7 (+) で 13.0 ヶ月であった。

(6) Overall survival (OS) の中央値は、CTC クラスター (-) で 35.0 ヶ月、CTC クラスター (+) / AR-V7 (-) で 24.0 ヶ月、CTC クラスター (+) / AR-V7 (+) で 13.5 ヶ月であった。

(7) 多変量解析において CTC クラスターにおける AR-V7 が、アピラテロンまたはエンザルタミドで治療された骨転移性去勢抵抗性前立腺癌患者の PSA-PFS, rPSF, OS の予測因子であった。CTC clusters での AR-V7 は、アピラテロンまたはエンザルタミド治療での疾患の転帰を予測するために重要であった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Okegawa T, Ninomiya N, Masuda K, Nakamura Y, Tambo M, Nutahara K. AR-V7 in circulating tumor cells cluster as a predictive biomarker of abiraterone acetate and enzalutamide treatment in castration-resistant prostate cancer

patients. Prostate. 2018;78(8):576-582.

2. 桶川隆嗣,板谷直,原秀彦,多武保光宏,奴田原紀久雄:去勢抵抗性前立腺癌における末梢循環癌細胞と androgen-receptor splice variant 7 の意義. 泌外 30(臨増):679-682, 2017.

3. Okegawa T, Itaya N, Hara H, Tambo M, Nutahara K: Epidermal Growth Factor Receptor Status in Circulating Tumor Cells as a Predictive Biomarker of Sensitivity in Castration-Resistant Prostate Cancer Patients Treated with Docetaxel Chemotherapy. Int J Mol Sci 17(12), 2016. pii: E2008.

4. 桶川隆嗣, 鮫島未央, 北村盾二, 舩田一樹, 二宮直紀, 山口剛, 板谷直, 原秀彦, 多武保光宏, 奴田原紀久雄:去勢抵抗性前立腺癌における末梢循環癌細胞クラスターと androgen-receptor splice variant 7 の意義. 泌外 29(8):1253-1256, 2016.

5. 桶川隆嗣, 鮫島未央, 北村盾二, 舩田一樹, 森川泰如, 山口剛, 板谷直, 原秀彦, 多武保光宏, 奴田原紀久雄:ハイリスク前立腺癌における末梢循環癌細胞検出と遺伝子解析の意義. 泌外 28(8):1415-1420, 2015.

6. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における末梢循環癌細胞検出と遺伝子解析の意義. Prostate J 2(2):225-240, 2015.

7. Okegawa T, Itaya N, Hara H, Tambo M, Nutahara K: Circulating tumor cells as a biomarker predictive of sensitivity to docetaxel chemotherapy in patients with castration-resistant prostate cancer. Anticancer Res 34(11):6705-6710, 2014.

〔学会発表〕(計 20 件)

1. 桶川隆嗣:前立腺癌の Precision medicine について liquid biopsy 最前線. Urologic Oncology Forum in Saitama, 埼玉, 2017 年 11 月 10 日.

2. 桶川隆嗣:前立腺癌バイオマーカーのパラダイムシフト 去勢抵抗性前立腺癌における liquid biopsy の現状と展望. 第 82 回日本泌尿器科学会東部総会, 東京, 2017 年 9 月 16 日. (ワークショップ)

3. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌における Precision medicine の展望. アカデミック in MIYAGI, 仙台, 2017 年 9 月 5 日. (講演)

4. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌における Precision medicine を実現する治療戦略. 第 107 回 千葉泌尿器科集談会, 千葉, 2017 年 6 月 24 日.

5. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における末梢循環癌細胞の ARV7 を用いた治療して効果予測. 第 105 回日本泌尿器科学会総会, 鹿児島, 2017 年 4 月 23 日. (シンポジウム)

6. 桶川隆嗣:CRPC の Precision Medicine を実現する戦略と技術. Prostate Cancer frontier conference, 横浜, 2016 年 11 月 30 日.

7. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における個別化治療戦略. 第 40 回熊本泌尿器科医学会学術講演会, 熊本, 2016 年 11 月 10 日.

8. 桶川隆嗣:新規 CRPC 薬剤の使用経験と今後の展望. 茨城県県央地区 CRPC 講演会, 水戸, 2016 年 10 月 27 日.

9. 桶川隆嗣:CRPC の Precision Medicine を実現する戦略と技術. 西毛伊勢崎泌尿器科講演会, 高崎, 2016 年 10 月 14 日.

10. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療におけるオーダーメイド医療 From Bench to Bedside. 三重泌尿器科臨床セミナー, 津, 2016 年 9 月 9 日.

11. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌の治療戦略 最適なマネジメント. いわき地区 CRPC セミナー, いわき, 2016 年 6 月 21 日.

12. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌における個別化治療戦略. 高知 CRPC 治療セミナー, 高知, 2016 年 6 月 8 日.

13. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌における個別化治療の展望. CRPC カンファランス in 宮城, 仙台, 2016 年 6 月 4 日.

14. 桶川隆嗣:前立腺癌治療の最前線. 群馬診診連携講演会, 高崎, 2016 年 2 月 27 日.

15. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌における CTC と ARV-7 の意義. ジェブタナ発売 1 周年記念 CRPC 講演会, 東京, 2016 年 2 月 19 日.

16. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における個別化治療の展望. 静岡県東部 CRPC 講演会, 沼津, 2015 年 11 月 27 日.

17. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における個別化治療の展望. 大分県ガイティガ錠発売 1 周年記念講演会, 大分, 2015 年 10 月 22 日.

18. 桶川隆嗣:CTC の遺伝子解析による個別化治療. Prostate Cancer Seminar 第 22 回東京前立腺癌フォーラム, 東京, 2015 年 10 月 17 日.

19. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における個別化治療の展望. Prostate Cancer Seminar, 京都, 2015 年 9 月 25 日.

20. 桶川隆嗣:去勢抵抗性前立腺癌治療における個別化治療の展望. CRPC Forum in Shimotsuke, 栃木, 2015 年 8 月 26 日.

〔図書〕(計 1 件)

1. 桶川隆嗣. CTC と AR-V7 ってなんですか? どのように有効でしょうか? Q&A でスッキリわかる前立腺癌. 鈴木啓悦編集. 東京, メジカルビュー社, 2017 年. p.202-209.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桶川 隆嗣 (Takatsugu Okegawa)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：70306679

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
多武保 光宏 (Mitsuhiro Tambo)
杏林大学・泌尿器科・講師

舛田 一樹 (Kazuki Masuda)
杏林大学・泌尿器科・大学院生