

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 5 年 5 月 7 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16748

研究課題名（和文）精巣腫瘍における血中循環腫瘍細胞の検出に関する検討

研究課題名（英文）Detection of circulating testicular tumor cells.

研究代表者

本田 真理子（Honda, Mariko）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：10439797

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）：精巣腫瘍患者の血液中に存在するCirculating Tumor Cells（以下、CTC）の数が精巣胚細胞腫瘍の予測マーカーとして有用かどうか評価する為に、精巣胚細胞腫瘍患者9名の末梢血を精巣切除前に採取し、溶血した血液を濾過し細胞サイズの違いから単核球と腫瘍細胞を抽出する方法（フィルター法）を用い、腫瘍細胞と白血球を抽出しCK, SALL4, Oct3/4で染色、CTC数を画像を1枚ずつ確認し、10nm以上の細胞で免疫蛍光染色陽性であるものを腫瘍細胞としてカウントした。その結果、血中の循環腫瘍細胞数は0～24個であったが、精巣切除後の再発やステージとの明確な関連は示唆されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

残念ながら、無数の白血球の混じった末梢血中から、わずかな数でかつ特異的な表面マーカーをもたない非上皮系腫瘍を採取し同定することが困難であり、予後予測マーカーとして活用できるという結果までは得られなかった。しかし未だ、精巣腫瘍の再発は画像検査とhCG、LDH、AFPの3つもマーカーで診断している状況であり、マーカーが上昇しない症例では化学療法後で画像上腫瘍があっても活動性の腫瘍かどうか不明な症例もある。採取方法や、採取した腫瘍細胞の発現解析を行うことにより、再発のより鋭敏なマーカーとして、または予後予測マーカーとして活用できる可能性があると考えられ、さらなる研究で明らかにする意義があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：To evaluate whether the number of Circulating Tumor Cells (CTCs) in the blood of patients with testicular tumors is a useful predictive marker for testicular germ cell tumors, peripheral blood samples of 9 patients with testicular germ cell tumors were collected before testicular resection, and hemolyzed blood was filtered to extract mononuclear cells and tumor cells based on cell size differences. Tumor cells and leukocytes were extracted using a method to extract mononuclear cells and tumor cells based on differences in cell size (filter method), and stained with CK, SALL4, and Oct3/4. The results showed that the number of circulating tumor cells in the blood ranged from 0 to 24, but no clear association with recurrence or stage after orchiectomy was suggested.

研究分野：Urogenital cancer

キーワード：testicular tumor circulating tumor cells predictive markers

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1．研究開始当初の背景

精巣腫瘍は極めて進行が速い代わりに化学療法に対する反応が比較的良好であるという特徴を有する。しかし、精巣摘除術後の再発・転移の確認は、現在血中腫瘍マーカーやCTなどの画像検査で行っており、血中腫瘍マーカーであるLDH, AFP、hCGが上昇しない場合もあること、画像検査でも微小な病変は指摘が難しいなどの問題点がある。

また、抗がん剤治療の場合、1コースあたり1か月前後の入院を要するため、好発する小児や30代の患者さんにとって、副作用による身体的負担のみならず、仕事や学業を長期に中断されるなど社会的・心理的負担も大きい。

再発・転移を早期に検出すること、精巣摘除後の追加化学療法が必要な症例かどうかを判断するため、鋭敏で低侵襲な精巣腫瘍のマーカーが必要とされている。

### 2．研究の目的

本研究では胚細胞腫瘍が多くを占める、精巣腫瘍患者の血中循環腫瘍細胞 Circulating Tumor Cells (以下CTC)の検出法を検討し、その臨床的意義を明らかにする。非上皮系細胞を含む血中循環精巣腫瘍細胞を採取するために、細胞の大きさで抽出する方法と、血液細胞マーカーの抗体で不要細胞を除去する方法を用い、いずれの場合も採取した細胞を、胚細胞腫瘍特異的なマーカーで細胞免疫蛍光染色し、腫瘍細胞としてカウントする。その結果を臨床経過のデータと合わせ、血中循環腫瘍細胞の有無が、予後予測や再発・治療効果の指標として有用かどうかを検討する。

### 3．研究の方法

精巣胚細胞腫瘍患者 9 名の末梢血を精巣切除前に採取し、溶血した血液を濾過し細胞サイズの違いから単核球と腫瘍細胞を抽出する方法(フィルター法)を用い、腫瘍細胞と白血球を抽出し CK, SALL4, Oct3/4 で染色、画像を 1 枚ずつ確認し、10nm 以上の細胞で免疫蛍光染色陽性であるものを腫瘍細胞としてカウントした。

### 4．研究成果

血中の循環腫瘍細胞数は 0～24 個であったが、精巣切除後の再発やステージとの明確な関連は示唆されなかった。

Table 1. 術前の患者背景.

症例番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
手術時年齢	32	38	41	50	33	55	36	25	17
左右	右	右	右	右	左	左	左	左	右
合併症	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし	21trisomy
腫瘍最大径 (mm)	47	62	40	49	69	58	22	40	63
臓器転移 (臨床病期 M期)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リンパ節転移 (臨床病期 N期)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
血中 AFP(ng/ml)	3	3	3	3	4	7	1.5	4	<u>5624</u>
血中 hCG(mIU/ml)	<u>2.9</u>	<2.0	<u>2.5</u>	<2.0	<2.0	<u>11.7</u>	<1.0	<u>6.8</u>	<2.0
血中 LDH(U/L)	172	257	188	185	166	196	271	<u>405</u>	<u>531</u>

Table 2. 病理組織学的所見、CTC 数および臨床経過

症例番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CTC 数	0	13	24	0 **	1	0	1	0	2
IGCCC 予後予測 リスク 分類	Good	Good	Good	Good	Good	Good	Good	Inter.	Inter.
組織型	S	S	S	S	S	S	S 90%, EC 10%	EC	YS
病理学的 T 分類	1	1	1	1	2	2	1	2	2
臨床病期	NOMOSO ; A	NOMOSO ; A	NOMOSO ; A	NOMOSO ; A	NOMOSO ; B	NOMOSO ; B	NOMOSO ; A	NOMOS1 ; S	N1M OS2 ; B
AFP(ng /ml)*	3	3	2	3	3	8	N/A	2	101 6
hCG (mIU/ml) *	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	N/A	<u>2</u>	<2. 0
LDH (U/L) *	161	137	<u>215</u>	147	160	131	N/A	169	<u>216</u>
術後補助化学療法	なし	CBDCA ×1	なし	なし	なし	なし	なし	BEP×2	不明
フォローアップ期間 (月)	22	84	72	24	79	63	0	88	0

Table 2.

Table1, Table2 略語および補足説明

Inter.; Intermediate, S; Seminoma,

ST; Syncytiotrophoblast, EC; Embryonal cell carcinoma, YS; Yolk sac tumor, CBDCA; Carboplatin, BEP; Bleomycin/Etoposide/Cisplatin, SD; stable disease

\* 術後最低値

\*\* 白血球を含め細胞なし

\*\*\* 9 か月後に対側精巣に腫瘍が発生した。  
正常上限を超えた値に下線を敷いている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 Mariko Honda
2 . 発表標題 Detection of Circulating Tumor Cells with Testicular Tumor Patient
3 . 学会等名 The 110th Annual Meeting of the Japanese Urological Association
4 . 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------