

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21590983

研究課題名（和文） 末梢血循環腫瘍細胞を用いた肺癌術後再発予測・オーダーメイド治療の開発

研究課題名（英文） Development of system to predict postoperative recurrence of lung cancer / order-made treatment using peripheral blood circulating tumor cell

研究代表者

吉澤弘久（YOSHIZAWA HIROHISA）

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：50282984

研究成果の概要（和文）：肺癌患者のcirculating tumor cells(CTC)は術後再発の予測因子と成り得るか？を解析し、さらに術後アジュバント治療のオーダーメイド化を目指して研究を進めた。Circulating tumor cell高感度検出法の確立のための、EpCAM、抗cytokeratin抗体を含めた単離及び最も感度を高められるビーズ等の条件設定を用いて、肺癌患者におけるCTC定量を試みた。正常白血球細胞とPC9との混合比率は約1/100000まで高められたが、進行期肺癌の末梢血検体での検出率は3%、術後肺癌での検討では検出されなかった。さらなる検出感度の向上のため、現在条件設定を再検討している。またAllele specific PCR、Real time PCRを用いてERCC gene family、 β -Tubulin、RRM1の検討についても同様に進めている。

研究成果の概要（英文）：Whether circulating tumor cells (CTC) could be a prediction factor of the postoperative recurrence of lung cancer was investigated. Also CTC was utilized to establish order-made adjuvant chemotherapy. EpCAM, anti-cytokeratin mAb with magnetic beads were used to isolate CTC. Sensitivity of the method was raised to detect 1/100000 of PC9 tumor cells among normal leucocyte. CTC was examined in blood samples of advanced stage of lung cancer as well as post-operative patients. CTC was detected in 3 % in advanced stage while no positive case in post-operative patients. The present condition is under re-examination for improvement in its sensitivity. ERCC gene family, beta-Tubulin, and RRM1 using Allele specific PCR and Real time PCR are under examination.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：①肺癌 ②術後再発 ③末梢血循環腫瘍細胞

1. 研究開始当初の背景

Circulating tumor cell (CTC)は肺癌、乳癌、大腸癌等様々な癌の予後不良因子として報告されている。肺癌においては約 30~50%の症例が手術対象となるが、IA 期を除く病期の治療成績は不良である。切除術後の再発形式としては局所再発よりも遠隔転移の再発が多く、特に脳転移で再発する例が多い。術後の遠隔転移による再発を抑える目的で術後化学療法がデザインされ、最近の第Ⅲ相臨床試験ではIB 期~Ⅲ期の5年生存率を43%から51%に引き上げることに成功している。つまり、これまでの手術成績から、術後化学療法を受ける患者の20-50%は手術で完治していることになる。CTC countによって患者を高再発リスク群と低再発リスク群に分け、術後再発リスクの高い患者を判別する特異度の高い検査法が確立できれば、不必要な化学療法、放射線療法を避け、治療を受ける患者サイドから、また医療経済的にも大きなメリットがある。

2. 研究の目的

肺癌患者末梢血中の circulating tumor cell 高感度検出法の確立、術後再発と CTC count を照合し、再発の予測因子となりうるかの検討、Circulating tumor cell を用いた治療効果予測因子の検討、患者ごとのオーダーメイド治療パネルの作成。可能であれば、オーダーメイド治療パネルで選択した化学療法による前向き臨床試験で、無増悪生存期間、全生存期間に対する影響を検討する。

3. 研究の方法

Circulating tumor cell 高感度検出法の確立：マグネチックビーズによる単離を行うが、

予備実験では epithelial adhesion molecule (EpCAM)に加えて抗 cytokeratin 抗体を含めた triplet 抗体単離を併用することにより、さらに回収腫瘍数が高まる可能性が示されており、この方法を用いる。Triplet 抗体による CTC 単離の条件設定には EGFR mutation(+)の PC9 adenocarcinoma cell line を用い、最も感度を高められるビーズ等の条件設定を行う。判定には Allele specific PCR を用い、さらに混入腫瘍数をタイトレーションし、実用可能かをテストする。Circulating tumor cell を用いた治療効果予測因子の検討：Allele specific PCR、Real time PCR を用いて The excision repair cross-complementing (ERCC) gene family、Taxan 感受性： β -Tubulin(特に type II 発現パターン)、ゲムシタピン感受性：Rebonucleotide reductase subunit M1(RRM1)を同定する。条件設定には同様に PC9 を用い、EGFR mutation を検出可能な混入腫瘍数を明らかとする。また実際の再発等予後と CTC 検出の相関を検討する。

4. 研究成果

正常白血球細胞とPC9との混合比率は約1/100000まで高められたが、進行期肺癌の末梢血検体での検出率は3%、術後肺癌での検討では検出されなかった。さらなる検出感度の向上のため、現在条件設定を再検討している。またAllele specific PCR、Real time PCR を用いてERCC gene family、 β -Tubulin、RRM1の検討についても同様に進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕（計 6 件）

1. Miyabayashi T, Yoshizawa H et al. Vaccination with CD133(+) melanoma induces specific Th17 and Th1 cell-mediated antitumor reactivity against parental tumor. Cancer Immunol Immunother. 11:1597-608, 2011.
2. Aogi K, Yoshizawa H et al. A phase III open-label study to assess safety and efficacy of palonosetron for preventing chemotherapy-induced nausea and vomiting (CINV) in repeated cycles of emetogenic chemotherapy. Support Care Cancer. 34:276-82, 2011.
3. Satoh H, Yoshizawa H et al. Low-Dose Gefitinib Treatment for Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer Harboring Sensitive Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. J Thorac Oncol. 8:1413-7, 2011.
4. Mifune D, Yoshizawa H et al. Henoch Schönlein purpura associated with pulmonary adenocarcinoma. J Med Case Reports. 1:226-8, 2011.
5. 吉澤弘久 肺癌治療薬. 医薬ジャーナル. 47:180-4, 2011
6. 田中洋史, 吉澤弘久 他. 肺癌化学療法時の悪心・嘔吐の実際. 臨床腫瘍プラクティス 7:329-36, 2011.

〔学会発表〕（計 3 件）

1. Watanabe S, Yoshizawa H et al. Clinical Responses to EGFR-tyrosine Kinase Inhibitor Retreatment in Non-small Cell Lung Cancer Patients Who Benefited Prior Gefitinib Therapy. Lung cancer Early and Metastatic. European Society for Medical Oncology.

2011 年 9 月 24 日, ストックホルム

2. Ichikawa K, Yoshizawa H et al. DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) Box Polypeptide 3, X-linked is a CD133+ Tumour-specific Protein and Induces Antitumour Immunity. European Society for Medical Oncology. 2011 年 9 月 24 日, ストックホルム
3. Yang J, Yoshizawa H et al. Efficacy outcome in first-line treatment of advanced NSCLC with gefitinib VS carboplatin/paclitaxel by epidermal growth factor receptor (EGFR)- gene-copy number score and by most common EGFR mutation. European Society for Medical Oncology. 2011 年 9 月 24 日, ストックホルム

〔図書〕（計 2 件）

1. 吉澤弘久. 呼吸器研修ノート. 診断と治療社. p840, 2011
2. 吉澤弘久. 肺癌診療 Q&A. 中外医学社. p343, 2011.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

無し。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉澤弘久 (YOSHIZAWA HIROHISA)
新潟大学・医歯学総合病院・准教授
研究者番号：50282984

(2) 研究分担者

中田光 (NAKATA KOH)
新潟大学・医歯学総合病院・教授
研究者番号：80207802

(3) 研究分担者

渡部聡 (WATANABE SATOSHI)
新潟大学・医歯学総合病院・特任助教
研究者番号：50529740

