

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18619

研究課題名（和文）Microfluidics法を用いた泌尿器がん治療薬選択バイオマーカーの同定

研究課題名（英文）Identification of Biomarkers for Selecting Therapeutic Agents for Urologic Cancer Using Microfluidics Methods

研究代表者

伊藤 淳 (Ito, Jun)

東北医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：80466557

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：今回我々は、血液中のがん細胞を捉える新たな方法(Microfluidics法)で、腎癌患者さんの血液の中からがん細胞を取り出し、その特徴を理解することで治療薬を選ぶ指標（バイオマーカー）が見つけれないかどうか、研究を行った。結果として、腎癌細胞は血液中に存在してもわずかであり、我々の新たな方法を用いても全例でがん細胞を捉えることは難しかった。また、とらえた細胞も体内のがんの状態をすべてを表現しているとは言えず、バイオマーカーとしての役割を果たすには至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ほとんどすべてのがんにおいて、一つの細胞からがんが発生するのではないために、治療に対して薬物の反応性が異なることが生じる。しかし体内のあらゆる場所のがん組織を採取することは困難であり、近年採血した血液中のがん細胞を捉えるリキッドバイオブシーに期待が集まっている。これまで血液中からの採取が難しいとされていた腎癌細胞だが、われわれの方法では全例ではないものの、ある程度細胞を捉えることができた。悪性度が高いから捉えられたというわけでもなく、その意義は現在のところ不明ではあるが、今後の研究によっていまは存在しない、腎癌治療選択のバイオマーカーとなりうることを期待したい。

研究成果の概要（英文）：In this study, we used a new method (microfluidics method) to detect cancer cells in the blood of renal cell carcinoma patients to understand their characteristics and to see if we could find biomarkers for selecting therapeutic drugs. As a result, it was difficult to capture cancer cells in all cases even using our new method, because only a few kidney cancer cells were present in the blood. In addition, the cells that were captured did not represent all of the cancerous conditions in the body, and could not be used as biomarkers.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：CTC

1. 研究開始当初の背景

固形癌が転移するとき、癌細胞は原発性腫瘍組織から離れて血管中に入り、血流によって体内の種々の組織へ移動していくと考えられている。血流中の癌細胞の一部は死滅し、一部が生き残り転移先の組織に生着し増殖、血管新生を引き起こし転移巣を形成するに至る。原発腫瘍組織から離れて血液中に移行した癌細胞を、末梢循環癌細胞 (Circulating Tumor Cells, CTC) と呼ぶ。CTC の存在は 19 世紀より知られており、その研究はがんの転移機構の解明に重要だと考えられてきた。しかし、CTC は非常に少数なためその同定は非常に困難であった。これまで多くの研究者や臨床医が各種癌において検出技術の開発を行ってきた。そのような中、近年自動的に CTC を検出するシステムが開発され、なかでも CellSearch System はアメリカ合衆国において FDA の許可を取得し実用化されるに至った。これはモノクローナル抗体法を用いた免疫学的化学染色法により、非上皮細胞由来の細胞と上皮細胞由来の細胞を鑑別する方法に基づいて CTC を検出するものである。すなわち、上皮細胞や癌細胞に広く発現している上皮細胞接着分子 (EpCAM) に対するモノクローナル抗体を用い癌細胞を捕捉し、これを磁性微粒子で磁気的分離を行う。この CellSearch System を用いた研究により、泌尿器科癌と CTC においても様々な報告がなされるようになってきている。Bono らによると、癌化学療法を行う去勢抵抗性前立腺癌症例において、治療前に CTC が多く検出されると予後不良であるが、治療により CTC が低下する症例では全生存率が改善すると報告している。また、非転移性進行膀胱癌における膀胱全摘術前の CTC 陽性率は 30%であったのに対し、転移性進行膀胱癌ではその陽性率は 100%であったと Rink らは報告している。このように、泌尿器科癌における CTC 測定は、治療前の検出値で治療の有用性を判断する、薬物療法に対する反応を早い段階で評価する、再発の早期発見におけるマーカーとしての役割を果たす可能性がある。

一方、上皮の悪性腫瘍である癌は、その進行とともに癌細胞が周囲の構造を破壊しながら血管に侵入し血流によって転移を引き起こす。その過程のなかで、癌細胞が自身の上皮としての性格を失い、運動能を得るとともに浸潤に有利な特性を有するように細胞の性質が変化していく、上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) を起こしていることが知られている。これにより、上皮系の接着分子である EpCAM の発現が低下すると、より悪性度が高いと考えられる癌細胞が CellSearch では捕捉できなくなる可能性も指摘されている。

microfluidics 法は新たな手法で CTC の検出を試みる方法であり、2016 年に Gogoi らにより報告された。これは、微小流路を用いて microfluidic chip の中に血液を流すことにより CTC を捕捉する方法である。microfluidic chip の中には癌細胞を捕捉する幅 8 μm の滑らかな曲線構造の trapping chamber が 56320 個存在し、ここで CTC を捕捉する。微小流路に血液を流すところから捕捉まで、自動で行われるため高い感度 (94%) と特異度 (100%) を実現した手法である。また EMT を起こし、上皮系細胞の特徴を失った癌細胞も捕捉可能であることも証明されている。

2. 研究の目的

本研究では、近年種々の治療薬が開発されつつあるものの、その治療アルゴリズムがいまだ未確立であり、かつ血清マーカーがなくその開発が待たれる腎細胞癌において、microfluidics 法による CTC 測定を行いその検出能を確認する。満足できる検出能であった場合には CTC の陽性率と臨床的因子とを比較検討し、治療の有用性判断、あるいは再発の早期発見のマーカーとして CTC を利用できないか、その可能性を検討する。

3. 研究の方法

当院で診断した腎がん患者のうち、本人の同意を得られた症例において採血を行い、日本遺伝子研究所で Microfluidics 法を用いて CTC を捕捉した。患者の同意のもと、臨床病理学的背景と捕捉された CTC とのあいだに何かしらの関連性がないかを検討した。

4. 研究成果

これまで補足が難しいとされていた腎細胞癌 CTC だが、Microfluidics 法により数例捕捉することが可能であった。しかしその数は少なく、臨床病理学的所見との関連性は不明のままであった。また全例で捕捉できるわけではなく、課題の残る結果であった。

一方、日本遺伝子研究所との他の共同研究では 2022 年度は進行前立腺癌における CTC の役割を明らかにする手掛かりとなる論文を投稿した。この中では転移性ホルモン感受性前立腺癌患者を登録し観察した。Microfluidics 法で CTC のクラスターを認めた患者は全体の 53%存在し、この患者はそうでない患者と比較して有意に予後 (progression free survival) が不良であることを示した。

腎癌治療における治療選択のバイオマーカーは現在も必要性が唱えられており、今回の研究および前立腺癌での研究成果を足掛かりにして、研究を継続したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuki Kohada	4. 巻 10
2. 論文標題 Role of circulating tumor cell clusters in patients with metastatic hormone-sensitive prostate cancer receiving a gonadotropin-releasing hormone antagonist: A pilot study,	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Asian Journal of Urology	6. 最初と最後の頁 210, 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajur.2022.03.009	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 -

1. 著者名 Sugawara Shigeki, Takayanagi Madoka, Honda Shota, Tatsuta Takeo, Fujii Yuki, Ozeki Yasuhiro, Ito Jun, Sato Makoto, Hosono and Masahiro	4. 巻 30
2. 論文標題 Catfish egg lectin affects influx and efflux rates of sunitinib in human cervical carcinoma HeLa cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 802 ~ 816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cwaa029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小羽田悠貴
2. 発表標題 未治療転移性ホルモン感受性前立腺癌症例におけるcell free DNAのバイオマーカーとしての役割の検討
3. 学会等名 第5回Liquid biopsy研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小羽田悠貴、伊藤淳、佐藤信
2. 発表標題 「未治療転移性細胞感受性前立腺癌症例におけるcell free DNAのバイオマーカーとしての役割の検討」
3. 学会等名 第5回Liquid Biopsy研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小羽田 悠貴
2. 発表標題 転移性ホルモン感受性前立腺癌におけるAR-V7の発現についての検討
3. 学会等名 第29回 泌尿器科分子・細胞研究会 (COVID-19により延期)
4. 発表年 2020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