

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Initial detection of circulating tumor cells from metastatic prostate cancer patients with a novel small device

新規小規模デバイスを用いた転移性前立腺癌患者からの循環腫瘍細胞捕捉

日本医科大学大学院医学研究科 男性生殖器・泌尿器科分野
大学院生 大林康太郎
Prostate International 掲載予定

各種固形癌における腫瘍マーカーとして患者の微量血液から末梢血中を循環する癌細胞（循環腫瘍細胞 CTCs : Circulating tumor cells）を捕捉する研究や、血液中に漏れ出した癌由来の遺伝子情報（cfDNA : cell free DNA、ctDNA : circulating tumor DNA）を解析するリキッドバイオプシー(Liquid biopsy)の研究、開発が世界中で進められている。

CTCsの捕捉及び同定方法は多岐にわたって開発されているが、今回マイクロ流路法に位置する流体チップデバイス(Polymer CTC chip)を用いて、転移性前立腺癌患者末梢血からCTCsを捕捉可能かの検証実験を行った。このデバイスはレジンポリマー製で、75×25mmのプレパラート上に高さ100 μ m、長径100 μ m大のマイクロポストが約30,000個敷き詰められており、非常に小型であることが特徴である。

前立腺癌細胞株(PC3とLNCaP)における抗原発現の確認と細胞捕捉実験の後、未治療転移性前立腺癌患者14名より末梢血2mLを採取し、輸液ポンプで陰圧をかけながら、捕捉抗体であるEpCAM(Epithelial Cell Adhesion Molecule)抗体をコーティングしたchip内を通過させ、1時間程でCTCsの捕捉を行った。捕捉されたCTCsはPE-Anti EpCAMやDAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)、FITC-Anti CK(Cytokeratin)8、CK9、CK18、APC-CD45などの各種蛍光免疫染色を行い、蛍光顕微鏡で同定及び計測を行った。

培養した前立腺癌細胞株(PC3とLNCaP)でのPBS(リン酸緩衝生理食塩水:Phosphate Buffered Saline)約2mLに混濁させた捕捉率は、PC3で94.6%、LNCaPで82.73%と高い平均捕捉率を確認した。健常者から末梢全血2mLを採取し、培養した前立腺癌細胞を混濁させて同様の方法で捕捉を試み、PC3で83.82%、LNCaPで75.78%の平均捕捉率を確認した。前立腺癌細胞株で高い捕捉率が実証されたため、未治療転移性進行前立腺癌患者14名から末梢全血を2mL採取し、同様の方法でCTCsを捕捉し観察した。全例でCTCsを確認することができ、平均捕捉細胞数は48(1~81個/mL)であった。

以上より新規小規模デバイスが未治療転移性前立腺癌患者のCTCsを捕捉可能であるこ

とを確認することができ、既存の大きなシステムに比しても少量の検体で捕捉できることが示され、今後の臨床応用が大いに期待しうることが示された。

第二次審査では、同システムの他の泌尿器癌での捕捉、非転移症例の予後規定マーカーの可能性、捕捉した CTC の解析、CTC 数と臨床経過の相関、EpCAM 選択の理由、尿中検体での可能性など多岐に渡る質疑が行われたが、いずれも的確な回答が得られた。本研究は、がん診療における CTC に関して泌尿器科のみならず他の癌にも応用可能であり、腫瘍学的にも大変意義のある論文であり、今後の展開も十分期待出来る重要な研究という結論がなされた。よって、本論文は学位論文として十分に価値のあるものと認定した。