

Capturing circulating tumor cells in blood samples of colorectal cancer patients with the polymeric CTC chip

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 呉, 一眞 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002024

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	呉 一眞
論文題目	Capturing circulating tumor cells in blood samples of colorectal cancer patients with the polymeric CTC chip (ポリマー製のマイクロ流体 chip を用いた大腸癌患者の血液からの循環癌細胞の検出)		

(論文内容の要約) (1000字~1500字)

【目的】

大腸癌患者における末梢血を用いた検査として現時点では CEA などの腫瘍マーカーの測定が一般的ではあるが、進行癌や遠隔転移を認める大腸癌患者であるにも関わらず腫瘍マーカーが正常な症例も多く存在し、病態を正確に反映しているとは言い難い。そのため、血中循環腫瘍細胞 (Circulating tumor cell ; CTC) が新たな予後予測のバイオマーカーとして注目されている。しかし、CTC を捕捉し単離することは、血中濃度が極めて低い環境下では容易なことではない。この問題を解決するためにマイクロ流体チップによる測定法 (CTC-chip) が考案された。特に“ポリマー製”CTC-chip (以下 chip と呼ぶ) は既存のものと比較して、抗体固定が容易であり、安価であること、透明性が高く透過観察が可能等の利点が報告されている。

本研究では、この chip を使用して大腸癌患者の末梢血液から CTC を検出する事を目的とした。そのために chip を用いた CTC 捕捉システムを確立し、進行大腸癌症例における CTC の測定を施行した。また、大腸癌患者において検出された CTC と既存の腫瘍マーカーを比較し、腫瘍マーカーとしての CTC の有用性を検討した。

【方法】

まず、この chip に対して大腸癌細胞株を使用して癌細胞を捕捉する方法を確立した。大腸癌の細胞株は、上皮細胞マーカーである epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) を強く発現している HCT-116 を用いて、EpCAM 抗体による捕捉実験を行った。PBS と健常血液のそれぞれに細胞株を懸濁してサンプルとして使用した。蛍光染色した約 1000 個の HCT-116 を chip 内に 1ml/h の流速で流入させた後、chip に捕捉された癌細胞数を計測することで癌細胞の捕捉率を求めた。

次に、進行大腸癌症例 13 例 (stage II:4 例, stage III:2 例, stage IV:7 例) を対象に、手術前日の末梢血液の CTC を測定した。捕捉には EpCAM 抗体で作製した chip を使用した。患者の血液 1ml を chip に 1ml/h の流速で流入させた後、蛍光抗体染色を行い、DAPI(+), cytokeratin(+), CD45(-) を示す細胞を CTC と判定して計測した。また、CTC が検出された症例数と、既存の腫瘍マーカー (CEA, CA19-9) が基準値を超えた症例数を比較した。

【結果】

癌細胞株による検討の結果、捕捉率は PBS の懸濁液において平均 90.9 %、健常血液の懸濁液において平均 65.0 % であり、EpCAM 陽性の大腸癌細胞が chip で捕捉される事が示された。

進行大腸癌症例に対する CTC 測定において、13 例中 12 例で CTC が検出された。また、stage II-III 症例で捕捉された CTC 数(3.3±2.3)は stage IV 症例で捕捉された CTC 数(7.0±6.2 個)と比較して少ない傾向にあった (p=0.092)。腫瘍マーカーとの比較において、全 13 症例の内 CA19-9 の陽性率は 15% であった。これに対して CTC の陽性率は 92% であり有意に高い結果となった (p<0.001)。特に、stage II-III 症例 (6 例) の内 3 例は CEA と CA19-9 がともに陰性、2 例は CA19-9 が陰性を示したのに対して、CTC は全例で検出された。

【考察】

進行大腸癌症例の末梢血液における CTC に対し、ポリマー製のマイクロ流体チップ (chip) を使用した検出法を確立した。検出された CTC 数は癌の進行度に依存した変化が見られた。さらに、既存の腫瘍マーカーと比較して、CTC は早期に陽性になっており、有効な腫瘍マーカーとなる可能性が示唆された。