

Circulating tumor cells detected with a microcavity array predict clinical outcome in hepatocellular carcinoma

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2021-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高橋, 和人, Takahashi, Kazuto メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/00028796

学位論文の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏名	たかはし かずと 高橋 和人
学位論文題目	Circulating tumor cells detected with a microcavity array predict clinical outcome in hepatocellular carcinoma (マイクロキャビティアレイにより検出された循環腫瘍細胞は肝細胞癌の臨床転帰を予測する)		
<p>【研究の目的】</p> <p>肝細胞癌（HCC）は世界で年間85万人の新規発症があり、その死亡者数は癌関連死の中で2番目に多い。さらに肝癌は経皮的焼灼術や外科切除などの根治的治療を行った後も高率に再発する予後不良な悪性疾患である。肝癌の転移や再発は主として血行性経路を介するため、循環腫瘍細胞（Circulating tumor cell: CTC）の検出は癌の早期診断や再発予測のためのバイオマーカーとなりうる。CTCの採取は患者末梢血に対する非侵襲的な液体生検技術により行われており、本研究では独自のマイクロキャビティアレイ（MCA）システムによって細胞サイズや変形能の違いに基づいた手法を開発した。さらに本法を用いて、さまざまな肝疾患患者におけるCTCを定量し臨床的意義を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>対象は肝硬変（LC群）14例、局所性HCC群18例、転移性HCC群13例、正常コントロール（HD群）7例とした。CTCの検出は、全血3mLを用いてMCAにて行った。MCAは、およそ3000個の微小貫通孔をもつ基板で構成され、血液が最適化された流速で基板を通過することにより、細胞のサイズや変形能に基づいて血球が除去され腫瘍細胞のみを捕捉するCTC検出システムである。本研究では、捕捉細胞を蛍光免疫染色し、DAPI(+)/Cytokeratin(+)/CD45(-)の細胞をCTCとした。はじめに、肝癌細胞株（HepG2、HuH7、PLC/PRF/5）を混合した健常人全血3mLをMCAで処理し腫瘍細胞の検出率を検討した。次に、定量的PCR法を用いて、捕捉肝癌細胞株由来、肝特異的マーカーmRNA発現〔AFP、Glypican-3(GPC3)、EpCAM、Albumin(ALB)〕を定量した。さらに患者検体より検出したCTC数およびCTC由来mRNA発現と臨床背景との関連を解析した。</p> <p>【結果】</p> <p>MCAを用いた肝癌細胞株の検出率は、HepG2 65.1%、HuH7 76.7%、PLC/PRF/5 99.0%と高率であった。定量的PCR法によるmRNA発現解析では、捕捉肝癌細胞株由来AFP、GPC3、EpCAM、ALBの発現量が腫瘍細胞数に応じて増加することを確認した。患者検体を用いた検討では、LC群、HCC群、HD群のCTC陽性率（平均CTC数）はそれぞれ、14.3%（5.3個）、54.8%（47.6個）、0%（0.1個）であり、HCC群はLC群と比較し有意に高かった（$P<0.05$）。局所性HCC群と転移性HCC群のCTC陽性率（平均CTC数）の比較においては、38.9%（8.2個）、76.9%（102.2個）であり、転移</p>			

性 HCC 群において高い傾向にあった。さらに HCC 群において、CTC 陽性例の累積生存率は、陰性例と比較し有意に低かった ($P<0.05$)。このうち局所性 HCC 群では同様に CTC 陽性例の累積生存率が有意に低かったが ($P<0.05$)、転移性 HCC 群では差はみられなかった。一方、定量的 PCR 法による HCC13 例の CTC 由来 mRNA 発現解析では、肝特異的な *AFP*、*GPC3*、*EpCAM*、*ALB* の発現率はそれぞれ 15.4%、7.7%、15.4%、46.2%であった。*ALB* 発現率は、転移性 HCC 群 83.3%であり、局所性 HCC 群 14.3%より有意に高かった ($P<0.05$)。

【考察】

MCA による CTC 検出システムでは、転移性 HCC 群において局所性 HCC 群より多くの CTC が検出された。また CTC が検出された検体では、肝特異的マーカー mRNA の発現解析が可能であった。一方、代表的な CTC 検出システムの一つである CellSearch® は、*EpCAM* 発現に基づいた CTC 検出システムである。しかし、HCC 原発巣における *EpCAM* 発現は 35%程度と報告されており、HCC 患者に対する同システムの CTC 検出能は満足のものではない。本研究で用いた MCA は、*EpCAM* 発現に依存しない CTC 検出システムであり、CTC 陽性率は 54.8%と既報と同等であった。さらに CTC 陽性のカットオフ値を適切に設定することで、HCC 患者の予後を層別化することが可能であった。加えて、CTC 由来肝特異的マーカー mRNA の発現解析では、転移性 HCC 群で検出された CTC 由来 *ALB* 発現が局所性 HCC 群と比較し高率であり、肝癌における病勢進行のマーカーとなる可能性が示唆された。

【結論】

最先端の液体生検技術である MCA システムを確立することによって、肝細胞癌患者の CTC に対する新たな検出系を構築した。本システムを用いた肝細胞癌 CTC の検出は高感度かつ定量性に富んでおり、癌の進行度を反映するとともに予後予測に有用であった。さらに、CTC の遺伝子発現解析により患者末梢血中を循環する腫瘍細胞の分子病態が明らかとなり、肝細胞癌の進展における CTC の臨床的意義が示唆された。

備考 1 ※印の欄は、記入しないこと。

2 学位論文の要旨は、和文により研究の目的、方法、結果、考察、結論等の順に記載し、2,000 字程度にまとめタイプ等で印字すること。

3 図表は、挿入しないこと。