

乳がん治療への血中循環腫瘍細胞捕捉システムの応用

材料技術課 大永 崇 富山大学医学薬学研究部第2外科 塚田一博、長田拓哉

1. はじめに

近年、癌の治療や診断において血中循環腫瘍細胞（Circulating Tumor Cell: CTC）の利用が注目されている。CTC は原発巣や転移巣から血管に侵入した癌細胞であり、治療や診断における利用では、主に血中濃度と細胞の性状（遺伝子変異、タンパク質発現など）が利用される。CTC の血中濃度については、存在自体で癌が確定診断出来るだけでなく、濃度と予後とが相関することは多くの癌で報告されている。また化学療法中の CTC 濃度は、腫瘍のサイズ（体積）と相関することも知られており、その反応は腫瘍マーカーよりも早く明確であるため、従来は困難だった治療効果のモニタリングを可能とする。一方、細胞の性状については、特定のタンパク質の過剰発現を調べることで癌のサブタイプを判断し、それに適した癌治療薬を選択することに利用できる（例えば、乳癌や胃癌の HER2 過剰発現にトラスツズマブを使用する場合など）。また遺伝子については、現在、癌に特定の遺伝子変異がある場合にその遺伝子が担う細胞機能に作用し高い抗癌作用を示す薬剤（分子標的治療薬）の開発が盛んに行われている。このような薬剤を使用する場合、事前に適合する遺伝子変異を調べることにより、患者さんに合った薬剤選択が可能となる（EGFR 遺伝子変異に基づくゲフィチニブの使用など）。さらに最近では、遺伝子全体の変異等を網羅的に調べ、総合的な治療戦略をもとに癌治療する方向に進みつつある。従来、このような癌細胞の性状を知ろうとすると、手術や生検を必要とし多大な患者負担を伴ったが、CTC が利用できれば、血液検査だけで極めて容易に可能となる。

このように CTC は、癌の治療や診断に画期的な進歩をもたらす可能性が示されているが、臨床においては現在もほとんど利用されておらず、それは CTC の血中濃度が極めて低く単離が困難なことに由来する。現在、世界中で CTC 単離のデバイスや装置が開発されており、その中で有望な技術としてマイクロ流体デバイスを応用した CTC チップが提案されている。これまでに富山県工技センターでは、独自技術により“ポリマーCTC チップ”（図1 参照）を実用化し（県内企業で製造販売中）、十分な CTC 単離性能を有することを示した。本研究では、富山大学附属病院と共同してこのポリマーCTC チップを乳がん治療で臨床テストした。臨床検体からの CTC 捕捉・

同定、治療中の CTC 濃度変化などについて検討したので、報告する。

2. CTC 捕捉システム

臨床検体の捕捉試験と並行し、ポリマーCTC チップによる捕捉システムの改良を進めた。前年度の検討では、種々の媒体（全血、血液分画、PBS など）中の細胞を捕捉するためのシステムを開発し、既にキット化して県内商社から販売を開始している。一方、臨床現場では全血での試験が多く、試験時間短縮、消耗品の削減、さらなる操作の簡略化、などが求められるため、それに合わせた改良を行った。その結果、サンプル供給部を備えたチップホルダーとシリンジポンプからなる極めてシンプルなシステムを開発した（図2 参照）。操作が単純で複数サンプルの同時捕捉も可能であり、こちらも既にキット化して販売を開始している。



Fig.1 ポリマーCTC チップ

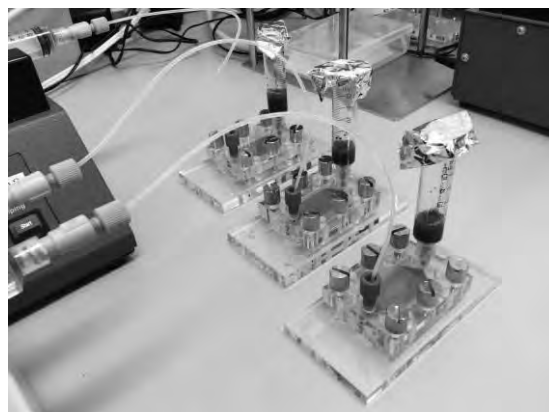


Fig.2 臨床用 CTC 捕捉システム

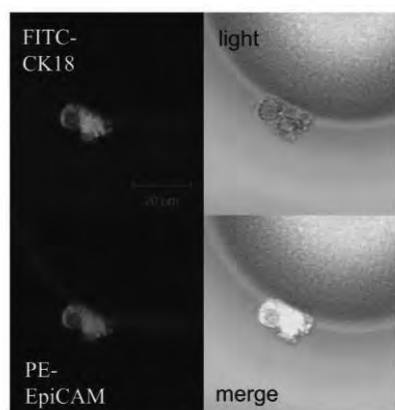


Fig.3 捕捉 CTC の共焦点レーザー顕微鏡像

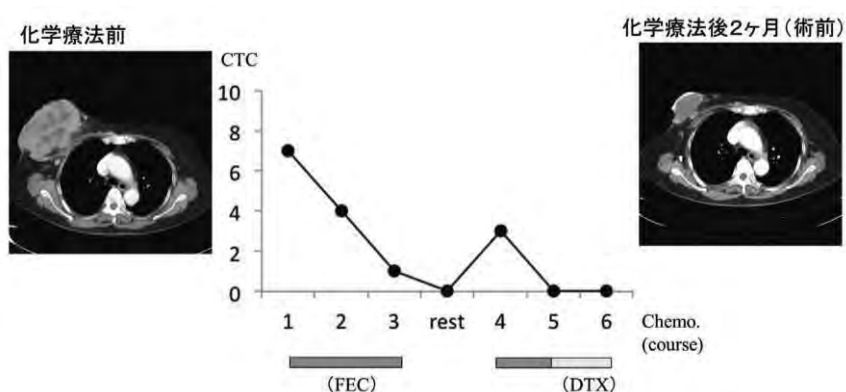


Fig.4 化学療法中の CTC 数変化と腫瘍サイズの変化

Table I CTC 捕捉と症例

	CTCあり	CTCなし	p因子
治療歴あり	8	40	p=0.15
治療歴なし	5	19	
手術あり	7	22	p=0.87
手術なし	6	37	
化学療法あり	3	25	p=0.15
化学療法なし	10	34	
再発あり	0	12	p=0.18
再発なし	13	47	

3. 乳がんにおける CTC の応用

これまでの検討で、91 の検体において CTC 捕捉を行った。捕捉した CTC の 1 例を図 3 に示す。共焦点レーザー顕微鏡により、癌細胞のマーカーであるサイトケラチン 18 (CK18)、EpCAM と核を明確に確認し、CTC を同定した。CTC 捕捉と症例の関係を解析した結果を表 I に示す。これまでのところ臨床データとの明確な関係は認められないが、症例数が十分とは言えない段階なので、今後さらに捕捉試験を進めるとともに、生存率、再発率など長期の検討が必要な項目についても評価を行う。

化学療法による治療過程での CTC の血中濃度変化について、進行性乳癌で検討した。患者さんから定期的に 3 mL の末梢血を採取して CTC 捕捉を実施し、得られた CTC 数を治療過程に対してプロットした結果を図 4 に示す。

す。術前化学療法の施行により、CTC は徐々に減少して 0 まで低下し、その後、休薬のため一時的に増加したが、治療を再開すると再度 0 まで低下した。通常の効果判定として、化学療法の前後で CT により腫瘍を検査したところ (図 4 両端の写真、写真左上の固形物が腫瘍)、腫瘍の縮小が認められた。以上の結果は、化学療法の効果がある場合、CTC 濃度の減少を伴う可能性があることを示唆しており、そのような事例は既に世界各地の検討で肺癌、大腸癌、膵臓癌においても確認されている。さらに、このことは化学療法中における治療効果のモニタリングの可能性を意味しており、もしそのようなモニタリングが実現できれば、早い段階で的確に判断しながら癌治療を進められるようになる。

4. おわりに

以上の検討から、ポリマー CTC チップシステムは乳癌治療で有効に使用できる可能性が示された。本システムは、乳癌に限らず広く応用可能であり、これまでは高価な装置や複雑な手法が必要のために停滞してきた CTC の臨床応用を、大きく前進させる可能性も有する。現在、国内の医学部、大学病院、研究機関等と共同し他の癌種での検討も進めており、今後はさらに広く展開する。

キーワード：血中循環腫瘍細胞、乳癌、化学療法、CTC チップ

Application of Polymer CTC-Chip System to Breast Cancer Treatment

Material Technology Section; Takashi OHNAGA University of Toyama; Kazuhiro TSUKADA and Takuya NAGATA

We have developed microfluidic devices called “polymer CTC-chip” that enable capture of circulating tumor cells (CTCs) from blood of cancer patients. A CTC isolation system using the chip was applied to breast cancer treatment in the present study. 91 blood samples from the patient were tested and the measured CTC numbers were analyzed on the basis of clinical data of the patients. In the case of metastatic breast cancer, change in the CTC number was measured during chemotherapy and decrease in tumor size seemed to be accompanied by decrease in the CTC number.