

## 学位論文抄録

切除不能進行再発大腸癌患者における Transcription–Reverse Transcription  
Concerted Reaction 法を用いた血中循環腫瘍細胞検出の有用性  
(The usefulness of Transcription–reverse transcription concerted reaction method  
for detecting circulating tumor cells in patients with advanced and / or metastatic  
colorectal cancer)

佐藤 伸隆

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻消化器外科学

指導教員

馬場 秀夫 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻消化器外科学

## 学位論文抄録

【背景・目的】近年、さまざまな癌腫で血中循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor cells: CTCs) が予後や治療効果の予測因子となりうる事が報告されるようになり、臨床応用が期待されている。最近、血中の腫瘍細胞を定量的に測定できる CellSearch system が開発され、これを用いた CTCs 検出の有用性が報告されており、米国では実臨床で用いられているものの、検査にかかる費用が高額であり、本邦では日常診療へ普及していないのが現状である。Transcription-Reverse Transcription Concerted Method (TRC 法) は、標的 mRNA の増幅および検出を 1 本のチューブ内で行える簡便な mRNA 検出法であり、迅速かつ安価に結果を得ることができる。我々は、TRC 法を用い CEA-mRNA を標的とした微量癌細胞の検出法を確立し、その有用性をこれまでに報告してきた。大腸癌診療における TRC 法を用いた CTCs 検出の有用性を明らかにし、臨床応用の可能性について検討することを目的とした。

【方法】1. 各方法の検出感度: 健常人全血に CEA 産生大腸癌細胞株 DLD1 を混和した希釈系列を作製し、CellSearch system と TRC 法を用いて CTCs 検出感度を検討した。2. 切除不能進行再発大腸癌における CTCs 検出: 臨床検体における TRC 法と CellSearch system での CTCs 検出を比較するために、2008 年 11 月から 2009 年 5 月の間に切除不能進行再発大腸癌患者から採取した全 42 検体を対象に比較検討した。また、化学療法前の CTCs 検出結果と予後との関連について、2008 年 6 月から 2009 年 5 月までの間に化学療法を導入し、経過中に根治的手術を受けていない切除不能進行再発大腸癌患者 25 人を対象に Kaplan-Meier 法を用いた生存曲線をもとに解析した。

【結果】1. 各方法の検出感度: CellSearch system を用いて  $10^0 \sim 10^4$  個の DLD1 細胞を混和した健常人血液 7.5ml 中からの癌細胞検出では、1 個の癌細胞検出が可能であった。TRC 法を用いた検出では、白血球  $10^5$  個中癌細胞 1 個の検出が可能であった。切除不能進行再発大腸癌患者全血 42 検体において、TRC 反応陽性は 27 検体であった。CellSearch system で CTCs  $\geq 1$  の検出を CTC positive と定義した場合、CTC positive は 27 検体であった。CellSearch system についての過去の報告に倣い、CTCs  $\geq 3$  の検出を CTC positive と定義した場合、CTC positive は 18 検体であった。TRC 法と CellSearch system での CTC positive の結果は、有意に相関した ( $p < 0.001$ )。根治切除を受けることなく経過した切除不能進行再発大腸癌患者 25 人での予後を検討した結果、化学療法導入前に CTCs が検出された症例 (TRC 反応陽性、CTCs  $\geq 3$  を CTCs positive) では、有意に予後が不良であった ( $p < 0.05$ )。

【結論】切除不能進行再発大腸癌患者における CEA-mRNA を標的とした TRC 法による CTCs 検出は、安価であり、CellSearch system による CTCs 検出と同様に予後を予測することができることから、臨床上有用な検査方法であり、今後、実臨床において CellSearch system による CTCs 検出の代替となりうる可能性がある。