

血中循環腫瘍細胞を利用した癌の遺伝子解析技術に関する基礎検討

機能素材加工課 大永 崇 富山大学第2外科 藤井 努 東京大学消化器内科 大塚 基之

1. はじめに

癌は遺伝子の異常に由来する病気であり、1つの腫瘍の中でも細胞レベルでは遺伝子が不均一であること、さらには個々の患者さん、治療や病状の経過などにより遺伝子が増えることへの理解が深まりつつある。このような認識と共に、近年の飛躍的な遺伝子解析技術の進歩が相まって、現在癌医療は、患者さんの腫瘍の遺伝子情報を網羅的に把握し個別的・精密的に実施する方向に進みつつある。このような癌ゲノム医療の実現は、現在、国主導のもと強力に推進されており、既にその課題が明示されている。課題の一つに、生検に代わる低侵襲な遺伝子採取が挙げられており、“Liquid biopsy”が注目されている。Liquid biopsyは、血液などの体液から遺伝子を得る手法であり、必要時に繰り返し実施できるが、微量成分を単離することが容易でないため、現在世界で研究が進められている。筆者らは既に、マイクロ流体デバイスを用いた血中の微量な癌細胞 (Circulating Tumor Cell; CTC) を捕捉する手法を確立している。本研究は、この手法で単離したCTCから遺伝子情報を得るための技術確立を目指し、がんゲノム医療推進に寄与すべく実施する。

2. ポリマーCTCチップをベースとした遺伝子解析

これまでに筆者らは、材料科学、表面科学、微細加工技術などを複合した工学的アプローチから、CTC捕捉を目的とした“ポリマーCTCチップ”を開発し、実用化すると共に国内大学病院と共同して臨床検体試験を進めてきた。その結果、大腸癌 (Ishibashi R et al. *Oncol Lett.* 2019,18,6397 および Kure K et al. *Oncol Lett.* 2020,19,2286)、前立腺癌 (Obayashi K et al. *Prostate International* 2019,7,131)、悪性胸膜中皮腫 (Yoneda K et al.

Cancer Sci. 2019,110,726)、乳癌 (長田拓哉ほか *癌と化学療法* 2015,42,1240) などにおいて高感度にCTCを捕捉し、本チップ技術の有用性を証明した。

本研究では、このように捕捉したCTCについて漏れなく遺伝子解析するための技術を検討する。解析にはチップに捕捉した細胞やその遺伝子の回収技術が必要なので、始めにこの点から検討を開始した。一般にこのような検討では高い回収率は達成されていないが、既に筆者らは確実な細胞保持が可能な回収技術を確立している (特許6283792号)。チップ中に特定のモノマー溶液を流し込み光照射により重合し、生成したゲルに細胞を包埋して回収する技術である。本技術では確かに全捕捉細胞の回収が可能だが、遺伝子解析を考えると次の懸念がある。

- 光重合による遺伝子、特にRNAの変性
- 使用化学物質のPCRへの影響
- 化学架橋ゲルのためその除去が困難
- 死細胞で回収されるため細胞培養ができない (遺伝子量を増した信頼性の高い解析ができない)

そこで本研究では、温度などの刺激により可逆的にゾル・ゲル転移し細胞傷害性のない高分子溶液系を見出し、上記同様に細胞回収する技術を検討している (図1参照、シングルセルの回収も含む)。今年度は様々な天然高分子・合成高分子溶液のゲル化挙動やゲル物性について検討し、転移温度、溶液粘度、ゲル強度などの点から本研究の目的に適する高分子を見出した。今後、細胞回収テスト、遺伝子解析を進め、技術確立する。

謝辞：本研究は科研費 (基盤研究(C) : 19K07746) の助成を受けたものである。

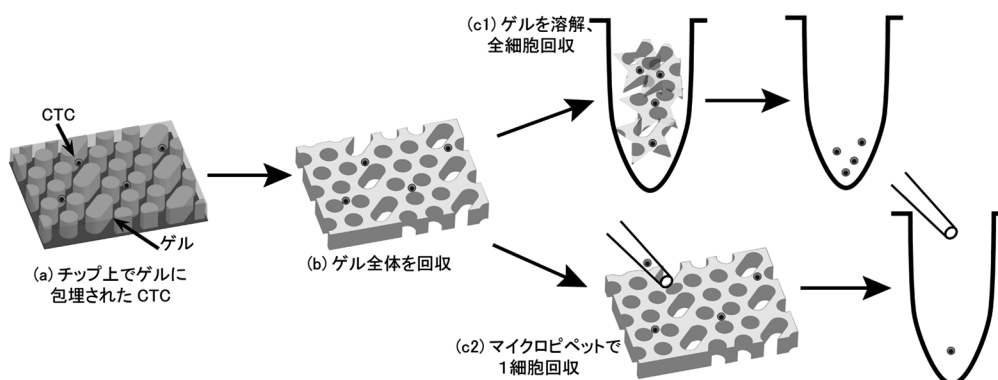


Fig. 1 ゲルを用いたポリマーCTCチップの細胞回収技術