

血中循環腫瘍細胞による早期膵臓癌の発見・診断と悪性度解析に関する研究

機能素材加工課 大永 崇 京都大学薬学研究科 嶋田 裕 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

近年、臓器ごとの癌治療成績が公表され、膵臓癌は極めて難治性であることが広く認知されつつある。難治性は、発見の難しさ、原発巣が小さな段階での転移、切除可能な状態での再発、などによるため、改善には出来る限り早期での発見・診断が求められている。さらに現状ではその実現に限界があるため、新たな検査技術の開発が進められている。その中で癌患者さんの末梢血中に存在する癌細胞 (circulating tumor cell ; CTC) を検出する技術が期待されている。しかしこれまでの膵臓癌の CTC 研究からは、早期での CTC 検出が困難であることが示され、その一因は上皮性の喪失にあると推定されている。筆者らはこれまでに、マイクロ流体チップに癌のマーカーに対する抗体を導入した、新規な CTC 捕捉デバイス ; ポリマーCTC チップを開発し、種々の癌においてその捕捉性能を確認している。本チップでは種々の抗体を容易に導入できる特長があるので、本研究では抗体の種類を変えて膵臓癌細胞の捕捉に適するマーカーについて検討した。さらにチップに捕捉した細胞について、シングルセルでの回収、発癌に関わる遺伝子異常の解析を検討したので報告する。

2. ポリマーCTC チップによる膵臓癌細胞の捕捉

従来の CTC 捕捉では、癌の上皮性にに基づき EpCAM がターゲットマーカーとして用いられており、本研究でも抗 EpCAM 抗体による捕捉を行った。また膵臓癌では EGFR が広く発現していることが知られているので、抗 EGFR 抗体による捕捉も実施した。膵臓癌細胞

として BxPC3 および MIAPaCa2 を用い、抗 EpCAM 抗体または抗 EGFR 抗体を導入したチップにそれらの細胞懸濁液を流して捕捉試験を行った。試験結果を捕捉率 (チップに捕捉された細胞の数 / チップに流入した細胞の数) として図 1 に示した。BxPC3 では EpCAM、EGFR の何れをターゲットとしても、比較的良い捕捉率が得られた。一方、MIAPaCa2 では、EpCAM ではほとんど細胞が捕捉されなかったのに対し、EGFR では高い捕捉率となった。また EpCAM と EGFR の比較では、何れの細胞においても EGFR をターゲットとした方が高い捕捉率となった。以上の結果から、膵臓癌の CTC 捕捉においては EGFR が良い捕捉ターゲットとなることが分かった。本検討に使用した MIAPaCa2 は、膵臓癌細胞株の中では比較的 EGFR 発現が低いので、本検討で使用した条件により広く膵臓癌細胞を捕捉できる可能性がある。また EGFR は、細胞の上皮性喪失の変化においても保持される例が知られているので、早期膵臓癌の CTC 捕捉に適用できる可能性もある。

3. シングルセルの回収と遺伝子解析

チップに捕捉された細胞を、マイクロピペットおよびマイクロマニピュレータによりシングルセルで回収できることを既に確認した。またシングルセルの遺伝子解析で、膵臓癌で広く異常が認められる癌遺伝子の *ras* について解析できることを確認した (図 2 参照)。

謝辞 : 本研究は科研費 (基盤研究(C) : 16K10617) の助成を受けたものである。

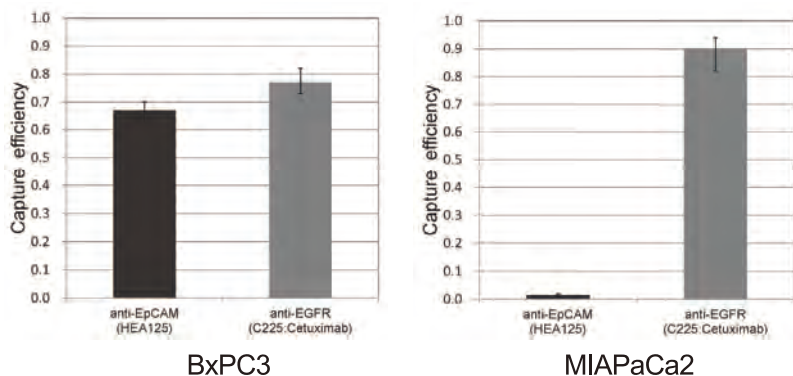


Fig. 1 ポリマーCTC チップの膵臓癌細胞捕捉性能

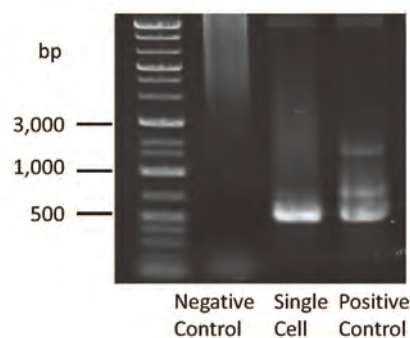


Fig. 2 膵臓癌シングルセルの *ras* に関する解析