

Study on microfluidic devices for isolation of circulating tumor cells expressing a variety of surface markers

材料技術課 大永 崇 加工技術課 小幡 勤 機械電子研究所 高田耕児
京都大学大学院薬学研究科 嶋田 裕 富山大学大学院医学薬学研究部 岸 裕幸、塚田一博

1. はじめに

血中循環腫瘍細胞（CTC）は、癌の原発巣や転移巣から血管に侵入し体内を循環する腫瘍細胞であり、その存在は古くから知られていたものの、単離されその有用性が確認されたのは近年である。手術や抗がん剤治療前後の CTC 濃度変化からそれらの効果を評価できることが示され、さらに腫瘍マーカーと比較して CTC では極めて早く明確な反応が現れることなどから、癌治療への CTC 検査導入を目指し世界中で研究が進んでいる。さらに最近では癌の個性を見分けるために CTC を利用する研究が進み、抗ガン剤（特に分子標的薬）開発の進展と相まって、最適な治療薬・方法を明確な根拠に基づき選択しながら行う癌の個別化治療が夢ではなくなっている。しかし現実には、このような癌治療での CTC 利用の進展は遅く、その大きな原因の1つが血中濃度の極めて低い CTC を単離する難しさにある。現状では、CTC 単離は極めて高価な装置（日本への導入は7台）や非常に手間の掛かる方法により行うしかなく、広く臨床現場で実施することはできない。このような状況を変えるため、現在、簡便な CTC 単離の研究も世界中で行われており、有望な方法としてマイクロ流体デバイス技術を応用した“CTC チップ”による単離が提案されている。

2. CTC チップによる腫瘍細胞単離

CTC チップは図1に示した原理により細胞を単離する。すなわち比表面積の大きいマイクロ構造（ここではマイクロ流路中にマイクロポストを多数配置）の表面に、癌細胞表面の特異的マーカーと結合する抗体をコートし、そこを流れる細胞を抗原抗体反応により捕捉することで

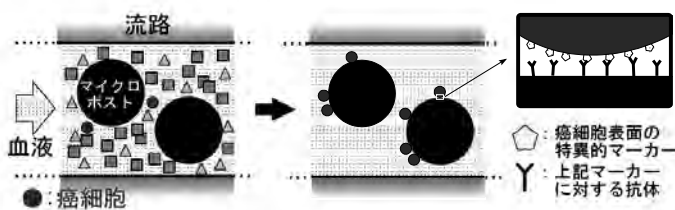


Fig. 1 CTC チップの捕捉原理

ムからなるのに対し、これまでに筆者らは世界でも例のない光硬化樹脂製の CTC チップを開発し、従来チップと同等以上の捕捉性能を有することを確認した^{1,2)}。一方、これまで一般に CTC チップでは癌細胞の特異的マーカーは上皮細胞接着分子（EpCAM）を用いてきた。しかし最近の研究から、癌細胞によっては EpCAM がほとんど発現しなかったり、経時変化して減少・消失したりすることが分かってきた。そこで本研究では、EpCAM 以外の表面マーカーも対象にして、血中の CTC を漏れなく捕捉できるよう開発チップを改良する検討を開始した。

3. EpCAM 以外の表面マーカー

現在、癌細胞のみが常時発現するマーカーを世界中の研究者が探索しているが、未だ確実なものは無い。よって本研究では種々の癌組織や癌細胞株に関する報告を調査し、低 EpCAM の場合によく見られるマーカーとして上皮成長因子受容体（EGFR）を選定した。図2に我々が所有する食道癌由来細胞株 KYSE510 の EGFR を、蛍光標識抗体で染色した結果を示す。細胞表面がよく染まっており EGFR の存在を確認したので、チップによる捕捉試験を開始した。

参考文献

- 1) T.Ohnaga et al. : Biomedical Microdevices, 15:611-616, 2013
 - 2) T.Ohnaga et al. : 第71回日本癌学会学術総会, P-1402 (2013)
- 謝辞：本研究は科研費（基盤研究(C)：25350582）の助成を受けたものである。

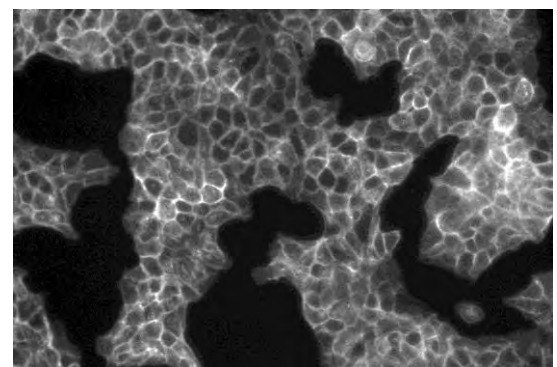


Fig.2 EGFR による免疫蛍光染色像