

マイクロ流体チップシステムによる肺癌での循環腫瘍細胞の高感度検出法の開発

材料技術課 大永 崇 産業医科大学 近石泰弘、岡 壮一、田中文啓

1. はじめに

癌の早期発見や診断、また個別化治療への応用を目指し、血中循環腫瘍細胞（CTC）について検討を行っている。CTC からは体内の癌に関する様々な情報が得られ、このような臨床応用が可能であることを示した論文が、既に多数出版されている。CTC の血中濃度は極端に低いいため CTC 検査は容易でないが、有望な方法としてマイクロ流体チップ技術を応用した“CTC チップ”が提案されている。富山県工技センターではいち早くその可能性を認め、臨床応用を目指したポリマーCTC チップを世界に先駆けて商品化した。現在、国内数カ所でチップの臨床テストを進めており、ここでは肺癌に関する検討結果を報告する。今年度は臨床検体の捕捉や同定を行い、そこで現れた課題などについて検討した。

2. 臨床検体からの CTC 捕捉

産業医科大学倫理委員会から承認を得て、患者さん同意のもと数名から末梢血を採取して、ポリマーCTC チップによる捕捉試験を実施した¹⁾。捕捉試験、細胞染色を行った後にチップ観察した結果の 1 例を図 1 に示す。この患者さんは癌性胸膜炎、腋窩リンパ節転移、EGFR 変異 (exon21 L858R)、が認められている。CTC の同定は、サイトケラチン染色および病理学的検査から行い、図 1 の写真において○で囲まれた捕捉物が CTC と同定された。この患者さんの場合は、血液 2ml 中に 9 個の CTC を確認した。

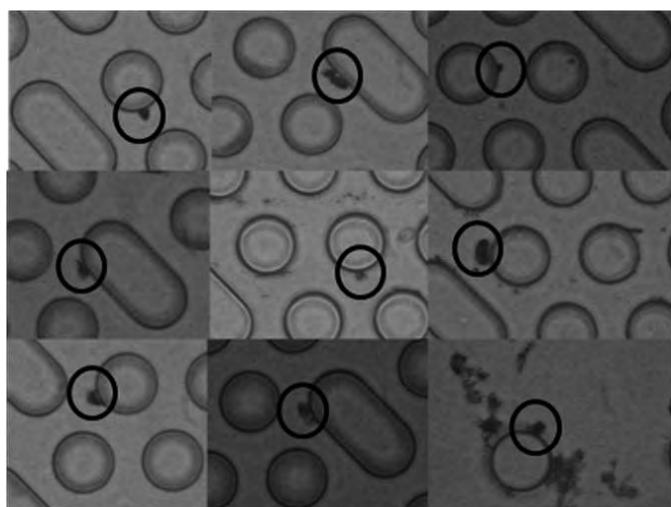


Fig. 1 肺癌の臨床検体から捕捉した CTC

次に捕捉された CTC の遺伝子解析を実施した。チップ上の CTC をプロテアーゼで溶解し、遺伝子増幅、電気泳動により EGFR 変異解析を行ったところ、組織検査で認められたのと同様に exon21 L858R の変異が確認された。

以上の臨床テストから、ポリマーCTC チップは臨床応用が可能な事が示された。また CTC において遺伝子解析できたことは、通常、肺癌の確定診断に必要な手術をとまなう生検を、血液検査で置き換えられる可能性を示している。また上記 EGFR 変異がある肺がんでは、非常に治療効果の高い抗がん剤（分子標的薬の EGFR チロシキナーゼ阻害剤ーゲフィチニブ等）が有効であることが知られており、変異の確認が CTC でできることは、低侵襲な血液検査による個別化治療の可能性も示す。

3. 蛍光標識抗体による CTC 同定

細胞の同定は、発現したタンパク質を蛍光標識抗体により検出することでも可能であり、既に CTC については EpCAM、サイトケラチン、CD45 などから同定した報告がなされている。本検討でも、抗サイトケラチン抗体、抗 CD45 抗体および核染色剤 (hoechst33342) を用いて、チップに捕捉された癌細胞の蛍光染色を試みた。はじめチップの自家蛍光やホルダーの紫外線遮蔽など問題があったものの、それらを改善したのちは、有核でサイトケラチン+、CD45- の細胞が蛍光発光から明瞭に CTC として判定できることを確認した。

4. おわりに

今年度の検討から、肺癌の臨床検体でポリマーCTC チップを使用し、CTC の捕捉、同定、遺伝子解析などが可能な事を確認したので、今後は具体的な臨床応用の課題について検討を進める。

参考文献

- 1) 近石泰弘ほか :BioJapan2013 講演資料

謝辞

本研究は科研費（基盤研究(C) : 24592108）の助成を受けたものである。