

# 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、近年、癌の治療、診断、研究などにおける重要性が確認されている。CTC は血中濃度が極め低く単離するのは困難だが、有望な単離デバイスとして CTC チップが知られている。筆者らは既に世界でも例のない光硬化樹脂による CTC チップを開発し、従来チップと同等以上の性能を有することを示した<sup>1)</sup>。CTC チップではそこに固定した抗体が癌細胞表面の特異抗原に結合することにより、捕捉する。従来、このような抗原として EpCAM が使用されてきたが、癌の多様性や複雑さからは、さらに適切な捕捉用抗原が求められている。本研究では、そのような抗原として EGFR について検討したので報告する。

## 2. 実験

・ 癌細胞株 : a) 食道癌細胞株: KYSE30, KYSE140, KYSE180, KYSE220 (by Dr. Yutaka Shimada), b) 乳癌細胞株: MDA-MB-231 (from ATCC)

・ 抗体 : a) 抗 EGFR 抗体: sc-120, sc-101 (Santa Cruz Biotechnology), Cetuximab (Bristol-Myers Squibb), b) 抗 EpCAM 抗体: sc-59906 (Santa Cruz Biotechnology)

## 3. 結果と考察

3 種類の抗 EGFR 抗体および抗 EpCAM 抗体を用い KYSE220 についてチップの細胞捕捉性能 (=細胞捕捉率: 捕捉した細胞数/チップに入った細胞数) を評価した結果を Fig.1a に示す。捕捉性能は抗体により大きく変

化し、分子標的治療薬である Cetuximab の使用により良好な結果が得られた。同様な結果は EGFR 発現量が異なる KYSE30, KYSE140, KYSE180 についても得られた (EGFR の範囲は 1 細胞あたり 6 万~1200 万個)。同様な検討を、MDA-MB-231 (一般に EpCAM による捕捉が困難なことが知られている) についても行ったところ、この場合も抗体による大きな差異がみられた (Fig.1b)。また Cetuximab による捕捉率は、EpCAM よりも大きく上昇したものの 50%程度だった。そこで、この細胞の EGFR 発現を調べたところ Fig.2 の結果を得た。MDA-MB-231 の EGFR 発現は既に幾つかの論文で報告されており、それによれば KYSE220 と同程度の値が知られている。しかし Fig.2 の結果では、MDA-MB-231 と KYSE220 の EGFR 発現は大きく異なっており、これが捕捉率の差異に現れたと考えられる。

## 参考文献

1) T.Ohnaga et al. : 第 72 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。また、Cetuximab を提供いただいた群馬大学医学部 横堀武彦先生に感謝いたします。

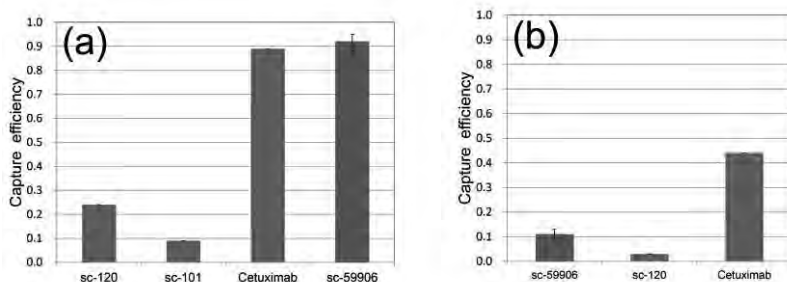


Fig.1 CTC チップの細胞捕捉性能(a)KYSE220,(b)MDA-MB-231

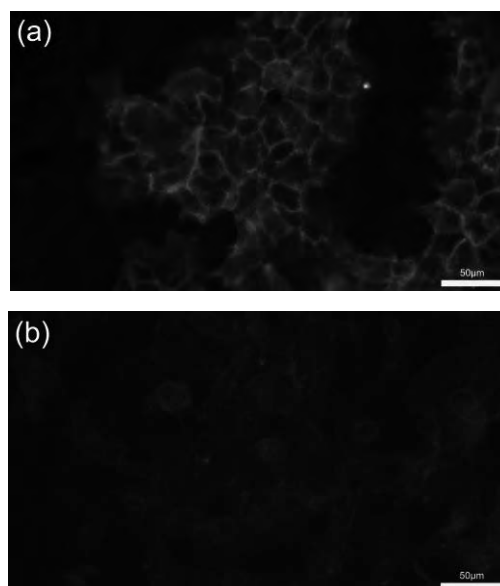


Fig.2 EGFR の免疫蛍光染色像 (a)KYSE220, (b)MDA-MB-231