

# 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

肺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。これまでの検討で、富山県工技センター開発のポリマーCTCチップシステムにより、肺癌の臨床検体 (末梢血サンプル数 mL) から CTC を捕捉・同定し、さらに遺伝子解析することで遺伝子変異を確認できることを示した。この結果は、末梢血による低侵襲な検査により癌を診断し、さらにはその癌にあった抗がん剤を使用する個別化治療を可能にするものである。CTC からはこのような遺伝子解析とともに発現タンパク質等の解析によっても有用な情報が得られる。そこで本検討では、蛍光標識抗体による CTC のタンパク質解析について検討したので報告する。

## 2. 実験

- ・細胞：肺癌細胞株 PC-9
- ・捕捉試験サンプル：PC-9/全血、3mL
- ・免疫染色用抗体：
  - a) ラビット抗サイトケラチン抗体/AlexaFluor594 抗ラビット IgG 抗体
  - b) ラット抗 CD45 抗体/AlexaFluor488 抗ラット IgG 抗体

・核染色剤：hoechst33342

## 3. 結果と考察

はじめに、通常のとおりポリマーCTCチップシステムに試験サンプルを流したのち、チップ内を洗浄して浮遊成分を除いた。CTCチップに捕捉された細胞は、固定・浸透処理ののち核染色剤、免疫染色用抗体で蛍光標識した。このように処理した細胞を観察した結果を図1に示す。捕捉された細胞の核、CD45、サイトケラチン(CK)が異なる蛍光分子により標識され、独立して観察された。癌細胞は通常、有核で CD45(-)、サイトケラチン(+)により同定されるので、図1右端の写真のように左3つの像を重ね合わせることで、癌細胞が容易に特定できる。

今回のタンパク質解析ではCTCの同定に必要なものに注目したが、抗体変えることにより他のタンパク質の検出も可能である。肺癌においては既に EGFR、Vimentin、N-Cadherin などの悪性化に関わる分子の研究例等があるが、本システムによれば低コストでより容易にこのようなタンパク質の解析が可能となる。

## 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。

蛍光デジタルカメラ(CP73)で撮影				
	U励起 (核染色)	B励起 (CD45染色)	G励起 (CK染色)	3つの励起を統合
× 100				
部分拡大				
Et, ISO ブラックパ ランス	2.696s 200 128	60s 200 352	11.81s 200 206	PC-9とリンパ球 が両方ある

Fig. 1 CTCチップに捕捉された癌細胞の多重蛍光染色像