

マイクロ流体チップを用いた大腸癌での血中循環癌細胞の機能解析

材料技術課 大永 崇 順天堂大学大学院下部消化管外科学 呉 一眞、富木裕一

1. はじめに

大腸癌の早期診断を目指し、既存の腫瘍マーカーに代わるバイオマーカーとして、血中循環腫瘍細胞 (CTC) について研究している。大腸癌の診断や治療において、CTC は既存の腫瘍マーカーよりも優れることを示す報告が既に数多くなされているが、CTC は血中濃度が極めて低く単離が非常に難しいため、現状では低コストで容易に CTC を解析することはできない。そこで筆者らは、これまでにマイクロ流体技術を用いた“ポリマーCTC チップシステム”を開発し¹⁾、その基礎試験から優れた CTC 単離性能を確認している。現在、様々な癌種でポリマーCTC チップの臨床テストを進めており、本研究では大腸癌への適用を検討している。既に順天堂大医学部にポリマーCTC システムを導入しており、ここではそれを用いた大腸癌細胞の捕捉等について報告する。

2. 実験

- ・大腸癌細胞株: HCT-116(EpCAM(+)), colo320(EpCAM(-))
- ・サンプル: PBS または健常者全血に上記癌細胞株をスパイクしたものをサンプルとした。
- ・捕捉用抗体: 癌細胞の EpCAM をターゲットとし、チップには抗 EpCAM 抗体を固定した。
- ・染色用抗体: AlexaFluor594 抗 EpCAM 抗体を使用した。

3. 結果と考察

PBS に大腸癌細胞株をスパイクしたサンプルからの細胞捕捉率は、HCT-116: 90%程度、colo320: ほぼ 0%、であった。抗 EpCAM 抗体を用いて捕捉しているので、

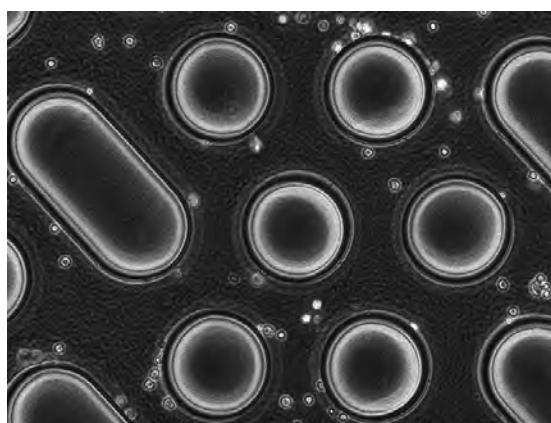
EpCAM が高発現の HCT-116 が選択的に効率よく捕捉されていることは予想された結果である。一方、colo320 がほとんど捕捉されないことも EpCAM 発現から理解されるが、このような非上皮性の CTC を単離することも臨床応用では重要である。既に colo320 を含む大腸癌細胞が EGFR を高発現していることが知られており、また筆者らは抗 EGFR 抗体を用いたポリマーCTC チップシステムによる効率的な癌細胞捕捉について報告しており、これらの知見をもとに今後の検討を進める。

全血/HCT-116 サンプルで捕捉試験し、AlexaFluor594 抗 EpCAM 抗体により染色した後のチップについて、その位相差観察像および蛍光観察像を Fig.1 に示す。位相差像では複数種の細胞が見られるが、蛍光像により大まかに癌細胞が特定できる。今後さらに核や白血球の染色を検討し、より確実な癌細胞の同定を行う。また今回の全血サンプルの試験では、血球成分の捕捉への影響などが窺えたので、今後、赤血球の溶血処理などについても検討する。

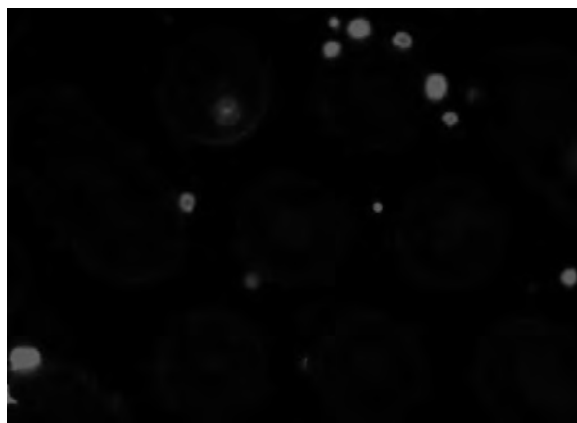
以上の検討から、大腸癌においてもポリマーCTC チップシステムを使用できることが分かったので、既に臨床検体による捕捉試験実施について治験審査委員会に申請し受理された。今後、臨床検体からの CTC 捕捉、解析についての検討を進める。

参考文献

- 1) T. Ohnaga et al. *Biomedical Microdevices*, 15:611-616, 2013
- 謝辞: 本研究は科研費(基盤研究(C): 25460700)の助成を受けたものである。



(a)位相差像



(b)蛍光像

Fig.1 全血サンプル試験後のチップ内イメージ