

# 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、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が、血中濃度が極めて低く未だ実用的な単離方法は無い。有望な単離デバイスとして CTC チップが知られているが、素材やコストに課題があったため、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 チップは表面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を行う。従来、このような抗原として EpCAM が用いられてきたが、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。

## 2. 実験

・癌細胞株 : a) 食道癌細胞株: KYSE140(EGFR: 6 万/cell), KYSE220(EGFR: 13 万/cell), KYSE180(EGFR: 60 万/cell), KYSE30(EGFR: 1200 万/cell) (by Dr. Yutaka Shimada), b) 乳癌細胞株: MDA-MB-231 (from ATCC)

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

## 3. 結果と考察

EGFR 発現が既知の 4 種類の食道癌細胞株を、2 種類の抗 EGFR 抗体を用いてチップに捕捉し、細胞捕捉率 (捕

捉した細胞数/チップに入った細胞数) を求めた結果を図1に示す。細胞捕捉率は抗体により大きく異なること、および抗体が同じなら EGFR 分子数が変わっても捕捉率はあまり変化しないことが分かった。用いた 2 つの抗体で同じ KYSE 細胞を染色すると同等に染色出来ることが分かっているため、このように捕捉率に大きな差が見られたことは意外だったが、抗体分子がフリーの場合と固体表面に拘束されている場合で結合に差異が生じることは興味深い知見である。一方、EGFR 分子が 200 倍 (6 万→1200 万) に増えても捕捉率があまり変化しないことは、チップ上の捕捉抗体分子数 (密度) があまり多くないことを示すと思われ、こちらもチップ性能改良の点から興味深い知見である。

乳癌細胞株の MDA-MB-231 について同様に細胞捕捉率を求めたところ、この場合も抗体による大きな差異がみられた (図 2)。この細胞株は EpCAM による捕捉が困難だが (sc-59906 の結果)、Cetuximab によれば高効率で捕捉できることが分かった。EGFR は他の癌においても高発現が認められることが多いので、新たな捕捉ターゲットとしての可能性を示す結果といえる。

## 参考文献

1) T. Ohnaga et al. : Molecular and Clinical Oncology DOI: 10.3892/mco.2016.734

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。

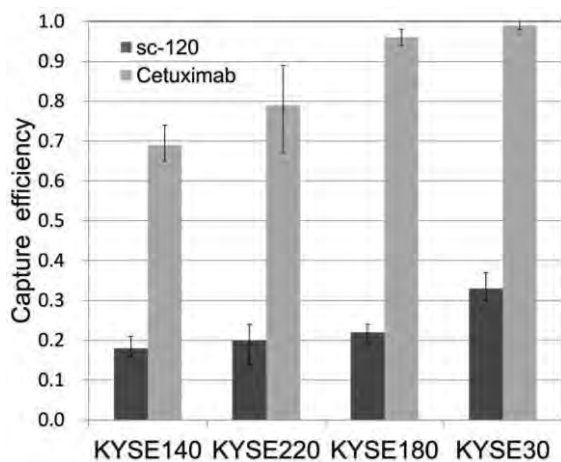


Fig.1 CTC チップの細胞捕捉性能

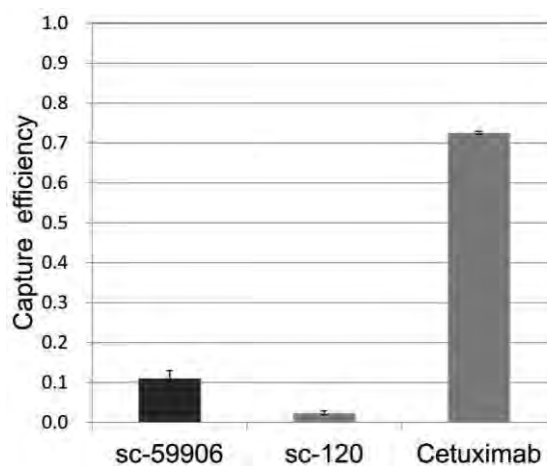


Fig.2 乳癌細胞の細胞捕捉率