

血中循環腫瘍細胞によるがん個別化治療のための バイオマーカー解析に関する研究

電子技術課 高田耕児 中央研究所 小幡勤*1

群馬大学 横堀武彦 富山大学 長田拓哉 京都大学 嶋田裕

1. 緒言

循環腫瘍細胞 (CTC) は血液中を流れる癌細胞であり、癌の転移の原因とも考えられている。この CTC を回収・解析することができれば、癌の検査・診断や患者一人ひとりに適した個別化治療などに応用することができる。昨年度までの研究において、Deterministic Lateral Displacement 法¹⁾を用いて細胞をサイズで分離するマイクロ流体チップを開発してきた。このチップは癌細胞を細胞懸濁液の形で回収できるので、癌細胞の解析 (免疫細胞化学、RT-PCR 等を用いたバイオマーカー等の解析) や培養をするのに適している。

今年度の研究では、共同研究を行っている大学の協力のもと、肺がん由来細胞株 (PC-9) を分離する実験を行った。

2. 実験

チップは既報²⁾と同様であり、構造を図 1 に示す。サイズ分離部に林立した微細な円柱の直径、間隔などを変えることによりサイズ分離のしきい値を変えた 3 種類のチップを作製して実験に用いた。細胞は肺がん由来細胞株 PC-9 (理研 BRC より入手) を用いた。培養した細胞をトリプシン処理により回収した後、フルオレセインにより蛍光標識し 500 cells/mL となるように送液バッファー (25wt% Glycerol, 0.5% BSA, 2mM EDTA, PBS) に加えたものを試料とした。Inlet 1 から試料を、Inlet 2 から送液バッファーのみをそれぞれシリジポンプにより流速 200 μ L/min で送液した。Inlet 1 から入った試料のうち細胞以外のバッファーはサイズ分離部の上側の流れ、Outlet 1 から排出される (この液を「廃棄液」とする)。試料中の細胞はサイズ分離部で下方向へと移動し、Outlet 2 から回収される (この液を「回収液」とする)。

3 種類のチップを使った実験について回収液中及び廃棄液中の癌細胞の個数を計測したものを表 1 に示す。チップ No.1 は昨年度と同様の柱の直径 70 μ m、ピッチ 100 μ m、間隔 30 μ m、高さ 50 μ m のチップである。No. 2 は柱の直径 63 μ m、ピッチ 90 μ m、間隔 27 μ m、高さ 50 μ m のチップ、No. 3 は柱の直径 56 μ m、ピッチ 80 μ m、間隔 24 μ m、高さ 50 μ m のチップである。培養細胞の回収率は No. 1 が 94.5%、No. 2 が 99.8%、No. 3 が 99.8%以上であった。

*1 現 商工企画課

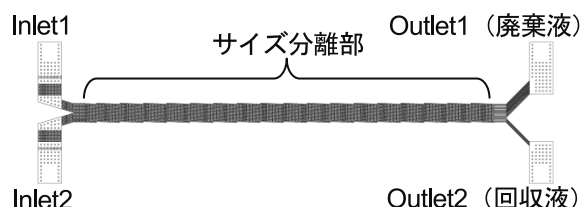


図 1 チップの構造

表 1 細胞分離実験結果

Chip No. (柱の間隔)	回収液中の 細胞数 (割合)	廃棄液中の 細胞数 (割合)
No.1 (30 μ m)	413 個 (5.5%未満)	24 個 (94.5%)
No.2 (27 μ m)	428 個 (0.2%)	1 個 (99.8%)
No.3 (24 μ m)	408 個 (0.2%未満)	0 個 (99.8%以上)

これらのことから、開発したチップは高い分離性能をもつこと、柱の間隔が小さいチップはサイズ分離のしきい値が小さいためより高い割合で細胞を回収できることを示した。しきい値が小さくなると白血球等の標的外の細胞がより多く混入するようになるため、実験の目的に合わせてしきい値を選ぶ必要がある。

3. 結言

開発したマイクロ流体チップを用いて肺がん由来の培養細胞を分離する実験を行い、チップが高い性能を持つことを示すことができた。これにより、今後さらに臨床サンプルを用いた実験を進めることが可能となった。

参考文献

- 1)Huang et al. Science **304**, 987 (2004)
- 2)富山県工業技術センター研究報告 **30**, 89 (2016)

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP26350557 の助成を受けたものです。