

# マイクロ流体チップシステムを用いた血中循環腫瘍細胞の自動捕捉・回収装置の開発

機能素材加工課 大永 崇 富山大学第2 外科 藤井 努

## 1. はじめに

本研究では、既に開発済みである癌患者さんの血中に存在する癌細胞（Circulating tumor cell; CTC）を単離できるマイクロ流体デバイス；ポリマーCTCチップを利用し、患者さんの検体から自動でCTCを単離・染色できる装置として“自動CTC捕捉装置”を開発した。さらに装置が実施するCTC検出試験を最適化する検討を行い、それをもとにモデル検体でテストして性能を実証した。

## 2. 自動CTC捕捉装置の開発

### 自動CTC捕捉装置のハードウェア開発：

自動CTC捕捉装置を自動分注機、シリンジポンプ、チューブラック等から構成するように設計し、本研究の目的と合致するよう各機器を選定した。自動分注機とシリンジポンプは統一的に制御できるように通信環境を用意し、チューブラック等は使用するサンプルチューブに合わせて設計した。このようにして用意したものを組み上げて、最終的に装置ハードウェアを製作した（図1参照）。

### 自動CTC捕捉装置のソフトウェア開発：

始めに自動分注機とシリンジポンプをPCから統一的に制御できるように、基本制御ソフトを開発した。ここでは自動分注機付属の制御ソフトを改変し、シリンジポンプ制御コマンドを追加するよう設計して、外注により基本制御ソフトを作成した。

次にこの基本制御ソフトが提供するコマンドを組み合わせて、CTC捕捉のプロトコルを装置で実現すべく、装置の動作シーケンスを作成した。プロトコルは既に共同発表した論文で使用したものをベースに、実際に装置を動作させながら装置に適合するよう改良した。これによ

り検体、固定溶液、浸透処理溶液、抗体溶液、核染色液を各々、順次CTCチップに供給・送液しインキュベーション、洗浄するプロセスが実行できるようにした。

### CTC捕捉プロトコルの最適化と装置性能確認：

効率よくCTCを捕捉し、さらに最良の細胞染色状態が得られるように、CTC捕捉プロトコルを最適化した。培養癌細胞のPBS懸濁液を使用した検討を行い、プロトコルのサンプル量、送液速度、インキュベーション時間、染色液濃度などのパラメータを調整して最適化した。

このようにして確立したCTC捕捉プロトコルを用い、モデル検体（培養癌細胞／健常者血液）による試験を実施して、装置性能を検証した。試験には次の細胞、血液、抗体を使用した。

培養癌細胞：KYSE220（食道癌細胞株）

健常者血液：自己血液（富山大学附属病院で採血）

癌細胞捕捉抗体：抗EpCAM抗体

マーカー染色抗体：抗CK抗体および抗CD45抗体

以前の同条件の手作業による検討では、ほぼ100%の細胞が捕捉されているが、本試験でも同様に高効率で癌細胞が捕捉された。得られた細胞画像を図2に示す。癌細胞を選別するためのマーカー（CK、CD45）が明瞭に蛍光染色され、癌細胞を明確に同定できた。このようにして本開発の装置が高いCTC検出性能を有することを実証した。

謝辞：本研究は、公益信託鮎久晴富山県内大学等研究助成基金の助成を受けたものである。



図1 自動CTC捕捉装置

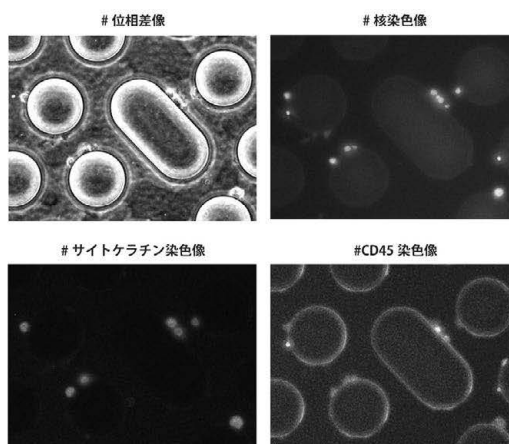


図2 染色後の細胞画像