

血中循環腫瘍細胞を利用した癌の遺伝子解析技術に関する基礎検討

機能素材加工課 大永 崇 富山大学第2外科 藤井 努 東京大学消化器内科 大塚基之

1. はじめに

癌が遺伝子の異常に由来する病気であり、極めて複雑・多様であることへの理解が進んでいる。そのため、個々の患者さんに最適な医療を提供するには、癌に発生している様々な遺伝子変異の把握が不可欠であることが認識されている。このような背景から、国レベルでは現在“がんゲノム医療”が強力に推進されており、100種類以上の遺伝子を解析するパネル検査が導入されている。パネル検査においては、全ての遺伝子が揃う細胞をサンプルとするのが理想だが、現在、癌細胞の採取は生検、手術に限られており、患者さんへの重度な負担や繰り返しが困難などの課題がある。

筆者らは10年程前から血中の微量な癌細胞(Circulating Tumor Cell; CTC)の癌医療での重要性を認識し、既にその単離技術を確立した。本研究ではこの単離技術を利用することにより上記課題を克服し、得られた癌細胞の遺伝子解析を可能とするための技術確立を検討する。

2. ポリマーCTCチップ+ゲルによる癌細胞回収

既に筆者らはCTC捕捉が可能な“ポリマーCTCチップ”を開発しており、ここでの課題の1つはチップからの細胞回収である。回収にはゲル材料を使用し、それに捕捉細胞を包埋して、微量かつ微小な癌細胞を紛失することなく全数回収するアイデアをベースに検討している。これまでの検討から、溶液粘度や転移温度が適当なゲル材料を見出しており、今年度はチップへの溶液充填・ゲル化・細胞回収について検討した。

チップ充填:ポリマーCTCチップに培養癌細胞を捕捉し、そこにゲルを充填することを試みた。ゲル材料の融解温度が室温以下なので、常温でその溶液を吸引してチップ

に充填したところ、流量が1 mL/h程度では充填が不十分であった。マイクロチップの流路高さが0.1mmと非常に低いため流動が遅く内部が強い減圧となって、漏れによる気泡巻き込みが発生した。そこで流量を0.5mL/hとしたところ、問題なく充填が可能で、捕捉細胞はチップポールに保持された(図1参照)。

ゲル化:上記のように充填されたチップを低温でゲル化させ、その後、チップカバーを外して流路上部をオープンにすることを試みた。ゲル化温度・時間をコントロールことで、十分な強度のゲルが生成し、ゲルすべてが流路に残った状態でカバーを外すことが可能となった。

細胞回収:このようにしてチップ上部からゲル内部へのアクセスが可能となったので、マイクロマニピュレータおよびマイクロピペット(図2参照)により、細胞回収を試験した。

ゲルが融解しない状態で回収を試みたところ、ピペットは細胞付近に届くものの、ゲルの粘性によりピペット内への細胞の吸引が出来なかった。

そこで次にゲル材料を溶解できる溶剤を探したところ、ゲルの溶媒成分がこのような働きをすることが分かった。この溶媒をゲル上部から滴下して、上記同様に回収試験したところ、細胞がピペットに吸引でき回収が可能であった(図3参照)。

このようにチップの捕捉細胞回収が可能となったので、今後、正常に遺伝子解析できるかを試験する。

謝辞:本研究は科研費(基盤研究(C):19K07746)の助成を受けたものである。

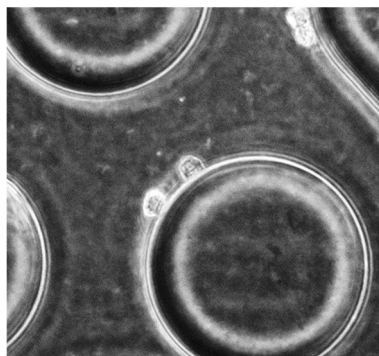


Fig. 1 ゲル中の捕捉癌細胞

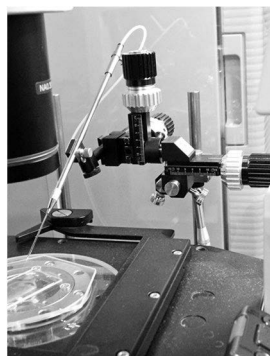


Fig. 2 細胞回収装置

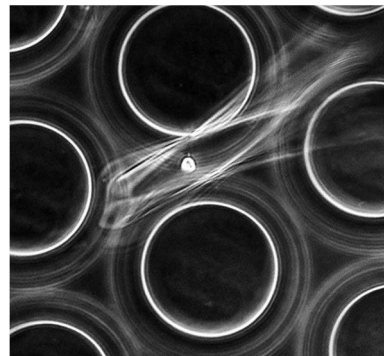


Fig. 3 ピペットに回収された細胞