

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*1

国立大学法人富山大学 藤井 努 国立大学法人東京大学 大塚基之

1. はじめに

癌の Liquid biopsy において、CTC(血中循環腫瘍細胞)の単離・回収技術の開発が急がれている。本研究ではこのような技術をシンプルな方法で実現し癌の遺伝子解析が広く実施できる基盤を提供することを目的とする。

2. ポリマーCTCチップによる癌細胞捕捉・回収

癌細胞を選択的に捕捉するデバイスとして、深さ100 μm の流路に多数のマイクロポスト(高さ、直径とも100 μm)を配置したマイクロ流体デバイスを使用した。本デバイスでは流路・ポスト表面に、癌細胞に特異的な表面抗原に結合する抗体を固定し、そこを流れる血液から選択的に癌細胞を捕捉する。本研究では本デバイスに捕捉した細胞を漏れなく回収する新たな技術の開発を行った。

本技術のコンセプトのポイントは、はじめにデバイス上の全ての細胞を光重合により形成するゲルで包埋し、次にゲルを溶解して細胞回収する点にある。このようなゲルを形成する高分子系を広く調査したところ、アクリルアミド系ポリマーを特殊な架橋剤でゲル化させる系で、ゲル化およびその後の溶解が可能なが分かった。そこで実際に細胞を捕捉したデバイスにこのゲル化溶液を流し込みその後紫外線照射したところ、十分な強度を有し細胞を包埋できるゲルが得られた(Fig. 1)。

次にこのようなゲルから細胞回収を試みた。回収はFig. 2に示すように、細胞周辺のゲルを特定の薬剤により架橋切断して流動させ、そこからマイクロピペットによりシングルセルの状態での回収するテストを行ったところ、問題なく細胞を回収できた。

3. 回収細胞の遺伝子解析

上記のようにして、ゲルによりデバイス上の細胞をシングルセルで回収する技術を確立できたが、ゲル化・溶解においては幾つかの化学物質を使用するため、それらが以降の遺伝子解析において影響がないか評価する必要がある。そこで実際に癌細胞株を用い、このような細胞捕捉・回収ののちに、その細胞に知られている遺伝子変異が検出できるかをテストした。肺癌細胞株のPC9を用い、PC9に知られているEGFR遺伝子欠失の検出を試みたところ、複数回のテストで再現性良く変異が検出できた。このことから、ゲルに使用している化学物質は遺伝子解析に影響がないことが確認でき、ここで確立した技術の有用性が確認された。

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。また本研究の遺伝子解析は、産業医科大学第2外科 田中文啓先生のもとで検討いただいた。深く感謝の意を表す。

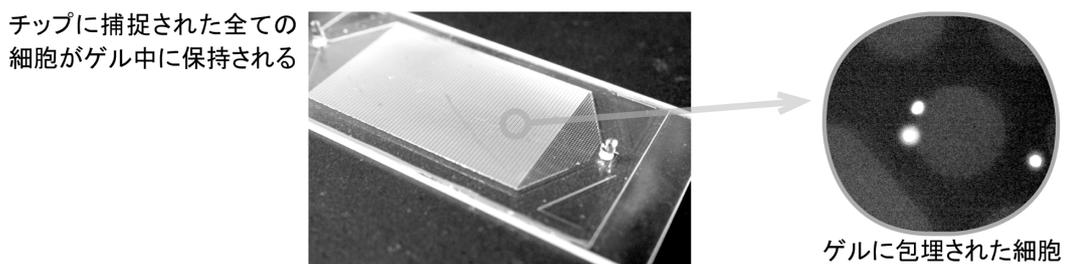


Fig. 1 デバイス上でゲルに包埋された細胞

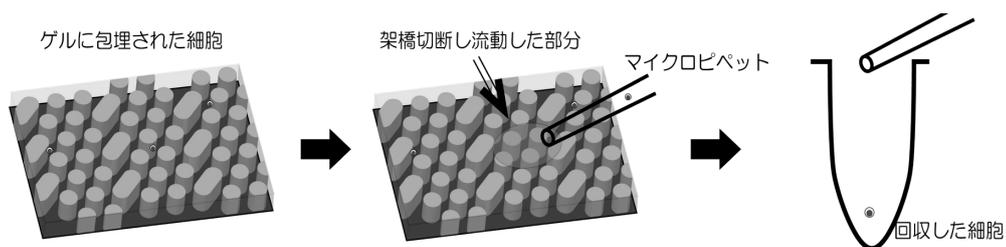


Fig. 2 ゲルからの細胞回収

*1 令和5年3月退職