

課題番号 : F-13-NU-0013
利用形態 : 機器利用
利用課題名 (日本語) : がん細胞分離・濃縮バイオデバイスの技術開発
Program Title (English) : Development of Microfluidic Chip for Cancer Cell Isolation and Enrichment
利用者名 (日本語) : 孫 逸船, 益田 泰輔
Username (English) : Y. Sun, T. Masuda
所属名 (日本語) : 名古屋大学大学院 工学研究科
Affiliation (English) : Graduate School of Engineering, Nagoya University

1. 概要 (Summary)

血中循環がん細胞 (CTC) を採取するための、微粒子分離マイクロ流体チップならびに自動細胞回収装置の開発を行う。微粒子配列方法の1つである移流集積技術とマイクロ流体チップを併用し、血液中の CTC を全血から前処理等の煩雑な操作を要せずに検出・分離することを目指す。正常血液にがん細胞をスパイクしたモデル系において、高いトラップ率を確認しており、さらになるマイクロ流路の形状の最適化により 90%以上のトラップ率を目指す。

2. 実験 (Experimental)

移流集積法で微粒子を分離するために、「22. レーザー描画装置」を用いて複数のマイクロピラーを有するオープン型マイクロ流体チップを作製した。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

マイクロ流体チップ上のピラーパターンは、CTC のトラップ率に大きな影響を及ぼす。一般的に CTC の大きさが $15 \pm 10 \mu\text{m}$ であることに比べ、赤血球と白血球の大きさはそれぞれ $6 \sim 8 \mu\text{m}$, $10 \sim 12 \mu\text{m}$ とされる。この情報を基に3種類のピラーパターン (ピラー間隔: 6, 7, 8 μm) を作製した。リン酸バッファー生理食塩液 (PBS: Phosphate Buffered Saline) 200 μL にヒト胃がん由来の細胞株 GCIY-EGFP を懸濁し、疑似臨床検体サンプルとして分離実験を行った。処理速度 57.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ の下、がん細胞がマイクロ流体チップ上に捕捉されるトラップ率を評価した結果、ピラー間隔 6 μm , 7 μm では、100%に近いトラップ率を得ることができた。しかし、間隔が 8 μm ではトラップ率が低く、ピラー間隔をがん細胞がすり抜けたことによる細胞ロストが観察された。

一方、捕捉されたがん細胞を Trypan Blue アッセイ

にて生存率を評価した結果、80%以上と高いがん細胞の生存を確認した。このことから、本がん細胞分離・濃縮デバイスは希少がん細胞を生きたまま回収できる可能性が示された。現在、正常血液にがん細胞をスパイクしたモデル系においても、その有効性を示されつつある。

4. その他・特記事項 (Others)

本装置利用に際して名古屋大学大学院工学研究科、新井史人教授に、多くのご配慮とご支援を頂きました。

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

- (1) 新美京, 益田泰輔, 遊佐亜希子, 中西速夫, 新井史人, “移流集積法を用いた血中循環腫瘍細胞の迅速分離”, 第27回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 平成25年5月23日
- (2) T. Masuda, Y. Sun, M. Niimi, A. Yusa, H. Nakanishi, and F. Arai, “Cell Layerer: Label-free cell isolation and aspiration system of circulating tumor cells”, 17th International Conference on Miniaturized System for Chemistry and Life Sciences (micro-TAS), 平成25年11月1日
- (3) Y. Sun, T. Masuda, M. Niimi, A. Yusa, H. Nakanishi, and F. Arai, “Isolation of Circulating Tumor Cells by Convective Self-assembly Technique”, 2013 IEEE International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science (MHS), 平成25年11月13日

6. 関連特許 (Patent)

なし。