全血対応が可能な細胞分取装置による癌モニタリング

Cancer monitoring by whole blood compatible cell isolation system

正 ○益田泰輔 (名大) Bilal Turan (名大) 登森勇介 (名大)
松阪諭 (筑波大) 正 新井史人 (名大)Taisuke MASUDA, Bilal TURAN, Yusuke TOMORI and Fumihito ARAI, Nagoya University
1 Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-0861, JAPAN
Satoshi MATSUZAKA, Faculty of Medicine, University of Tsukuba
1-1-1, Tennodai, Tsukuba 305-8575, JAPAN

Key words: Microfluidic chip, Circulating tumor cell, Air-liquid interface, Single cell analysis

1. 緒 言

血中循環腫瘍細胞 (CTC) をはじめとする体液中の遊離物質を用いた診断法は Liquid biopsy とよばれ、早期疾患の発見にまで寄与する。我々は、がん患者の血液から CTC を前処理不要で分取するために、細胞集団から不要な細胞を連続的に排除し、特定の細胞を分取する「レアセルソーター」を開発してきた。レアセルソーターは、マイクロ流路チップ上の細胞を直接操作が可能なオープン流路を採用している。オープン流路において、気体と液体の界面、いわゆるメニスカス、の形成が安定することは、細胞の分離性能に大きな影響を与える。本研究では、末梢血より採取した全血サンプルをオープン流路チップに導入し細胞分離をする間に、メニスカスを安定形成するための新たな流量制御方法を検討したので報告する。

2. オープン流路チップの流量制御

オープン流路チップ上のメニスカスを安定形成するため、①毛管力による血液の進展速度、②メニスカスの先端検出、の評価を行った。メニスカス先端からのオープン流路距離を L としたとき、全血サンプルを目的の流量 Q に対して、流れが間欠的にならず安定した流れを維持するための進展速度 V_{cap} は以下の式で表される。

$$V_{cap} = \frac{C^2}{2L} = \frac{Q}{S} \quad (1)$$

このとき、 S は流路断面積、 C は毛管力由来の定数となる。ヒト血液を用いて実験的に C を測定した結果、 $C=4.1$ を得た。このことから、メニスカス形成を維持し $Q=20$ mL/min の流量を達成するオープン流路距離 $L=1.7$ mm を導いた。さらに、メニスカス先端の位置情報を検出し、それに基づくサンプル供給及び吸引ポンプのフィードバック制御を行い、メニスカスの安定性を図った。メニスカスの先端位置は、顕微画像を基にメニスカスに対して水平方向の輝度値の変化量 (平均輝度値の微分) を算出 (図 1) し、その高値とした。

Fig. 1 Air-Liquid interface under the microscope, and its detected position.

3. 結果及び考察

ヒト血液からがん細胞を分離した結果を図 2 に示す。補足されたがん細胞が 1 列に並んでいることから、本提案の流量制御方法はメニスカス位置を一定に保持して、血液サンプルからがん細胞を分離出来ることを確認した。このことは、がん細胞の補足効率が向上するとともに、がん細胞の補足エリアを制限することから検出時間の大幅な削減が期待できる。

文 献

- (1) Masuda, T., Song, W.E., et al., PLoS One, vol. 12, (2017) e0174937.

Fig. 2 Cancer cells are trapped in a narrow band in the microfluidic chip.