白血球遊走解析のための遠心駆動マイクロ流体デバイスの開発

Centrifugal microfluidic-based preparation and analysis of lymphocytes chemotaxis

阪大院工 [1]，産総研 [2], 阪大院医 [3] ○當真 嗣尚 [1]，Wilfred Espulgar [1]，齋藤 真人 [1,2]，
小山 正平 [3]，高松 漂太 [3]，民谷 栄一 [1,2]

Graduate school of Engineering Osaka University[1], AIST PhotoBIO-OIL. [2], Graduate school of Medicine Osaka University [3]

○Tsugunao Toma[1], Wilfred Espulgar [1], Masato Saito[1,2],
Syohei Koyama[3], Hyota Takamatsu[3], Eiichi Tamiya[1,2]

E-mail: t-toma@ap.eng.osaka-u.ac.jp

はじめに: 白血球の遊走は生体防御に重要で、主にケモカインと接着分子により制御されていることが知られている。それゆえ、ケモカインによる細胞遊走制御機構の理解は、アレルギー性疾患や癌免疫治療において重要である。これまで 1 細胞レベルにおける細胞遊走解析は十分には行われておらず、その動態については不明な点が多い。本研究ではケモカインによる細胞遊走性を 1 細胞レベルで評価するためのマイクロ流体デバイスの開発を行った。シリンジポンプを用いたデバイスによって細胞遊走を評価する例が報告されているが、従来のシリンジポンプを使用したマイクロ流体デバイスでは流路内の流れの影響を受けることが多いため、細胞遊走の評価が困難であるという問題があった。そこで本研究では細胞捕捉およびケモカインの導入をポンプに依らない遠心駆動を用いたマイクロ流体デバイスを作製した。

実験：作製したマイクロ流体デバイスは、細胞とケモカインをそれぞれ導入するインレットがあり、細胞捕捉用チャネルおよびケモカインチャネルが並列した構造となっており、細胞捕捉用チャネルとケモカインチャネルを接続した遊走評価チャネル（高さ 4 μm、幅 6 μm、長さ 1000 μm）が配置されている。マイクロ流体デバイスは PDMS とスライドガラスを接着させたものであり、流路構造は従来のソフトリソグラフィーを使用して作製した。細胞捕捉用チャネルのインレットにケモカイン受容体 CXCR4 を発現する Jurkat 細胞を注入し、3000 rpm で回転させ細胞捕捉用チャネルへの導入およびトラップサイトへの 1 細胞捕捉を行った。Jurkat 細胞はあらかじめ CFSE 染色している。ケモカイン CXCL12 を同様に 3000 rpm で回転させ導入した後、遊走評価チャネル内での細胞移動を観測し、移動距離を計測した。

結果: 細胞捕捉用チャネル内のトラップサイトで Jurkat 細胞を捕捉することに成功した。ケモカイン CXCL12 をケモカインチャネルに導入した後、遊走評価チャネル内に Jurkat 細胞が進入し、ケモカインチャネルに向かって移動する様子を捉えることができた（Fig1）。細胞トラッキングを行ったところ平均速さは 94.6 μm/min となった。これらの結果より、本デバイスを用いて 1 細胞のケモカインに対する遊走評価を行えることが確かめられた（Fig2）。

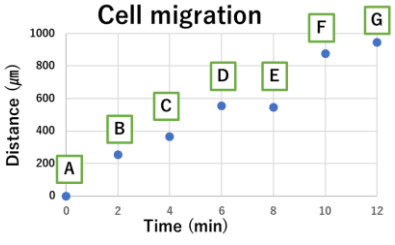

Fig2. Cell tracking

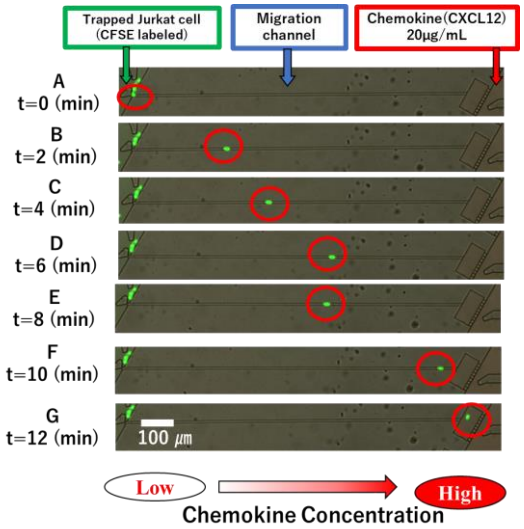

Fig1. Cell migration

© 2020年 応用物理学会