

カップ形状微小電極を用いた電気化学発光計測による 細胞表面発現分子の検出

Detection of molecules expressed on cell surface based on the electrochemiluminescence
measurement by using cup-shaped microelectrodes

産総研バイオメディカル研究部門¹, 東京農工大工学部², 産総研健康工学研究部門³,
東京農工大大学院工学府⁴

栗山 愛理^{1,2}, 鎌田 智之¹, 加藤 大¹, 小島 直¹, 山村 昌平³, ○金 賢徹^{1,2,4}

Biomed. Res. Inst., AIST¹, Fac. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.², Health Res. Inst., AIST³, Grad.
Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.⁴

Airi Kuriyama^{1,2}, Tomoyuki Kamata¹, Dai Kato¹, Naoshi Kojima¹, Shohei Yamamura³,

○Hyonchol Kim^{1,2,4}

E-mail: kim-hc@aist.go.jp

がん転移の過程で原発腫瘍から末梢血に放出される血中循環がん細胞 (circulating tumor cell, CTC) は、がん予後予測のバイオマーカーとして有用であると考えられている。これまでに様々な CTC 検出技術が開発されており、その主要な方法は、上皮細胞接着分子 (EpCAM) など正常血球細胞には発現しておらず CTC では発現していると考えられている細胞表面マーカー分子を蛍光抗体標識して検出するものであるが、マーカー分子低発現 CTC を見逃してしまう擬陰性の問題がある。そのため、EpCAM など従来の CTC マーカー分子に加えて様々な CTC マーカー分子の探索が行われているが、がん細胞の多様性のため、如何なるマーカー分子セットを使用しても低発現 CTC が生じる可能性が常に付きまとい、この問題を根本的に解決するためには、CTC 検出技術の感度を向上させる他はない。そこで本研究では、従来の CTC 計測で広く用いられている蛍光計測法の感度を凌駕する電気化学発光 (electrochemiluminescence, ECL) 計測法を CTC マーカー分子検出に適用することで、CTC 検出の感度向上に繋がる基礎技術の開発を目指した。

ECL は励起光を必要としないため背景光ノイズがほとんど無く高感度であるが、一方で ECL は電極表面ごく近傍 (数 nm) で生じる現象であるため、細胞 (直径約 10 μ m) のような大きな構造物の表面分子検出には不向きであった。そこで、細胞と同程度の直径 (15-20 μ m) を持ち、内面が低ノイズナノカーボン電極で構成されたカップ形状微小電極を作製し、細胞表面を電極で広く覆うことで、ECL を細胞表面分子検出に適用することを考えた。CTC のマーカーとして広く用いられる EpCAM に対する抗体を、ECL 基質であるルテニウム錯体で標識した。この抗体をヒト乳がん細胞株 (MCF-7) と反応させた後にカップ形状微小電極内へ捕捉し、電圧を印加した結果、ECL によりがん細胞表面に発現する EpCAM を検出することに成功した。さらに、従来の蛍光法では検出が難しい EpCAM 低発現乳がん細胞株 (MDA-MB-231) を用いた場合も、同様に EpCAM の発現を ECL により検出することに成功した。以上のように、本技術を用いることで細胞表面分子を高感度検出できるため、これまで見逃されていたマーカー分子低発現がん細胞を正確に捉え、CTC 診断の精度を向上させることが可能になると期待している。