

テラヘルツ波ケミカル顕微鏡を用いた

液体中肺癌細胞検出技術の開発

Development of Lung Cancer Cell Detection Technology in Liquid Phase

Using a Terahertz Chemical Microscope

岡山大学大学院, (M1) 丁 雪, 辻 紗也佳, 葭田 勇一, 岩附 康平,

井上 博文, 王 礎, 堺 健司, 紀和 利彦

E-mail: pm7g9k5d@s.okayama-u.ac.jp

1 はじめに

がんの発症率は年々上昇傾向にあり、発症年齢は低下傾向にある。癌ゲノム分析は個性的な癌治療に応用されることが期待されている。ゲノム分析の精度は一般的に試料組織中の癌細胞の割合に依存するため、試料組織中の癌細胞の数をどのように検出するかが重要である。従来、試料組織をホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin-Fixed Paraffin Embedded : FFPE) で固定し、癌細胞と正常細胞の比率を顕微鏡で評価した。しかしながら、このスキームは少なくとも2日間かかり、評価結果が病理学者のスキルに依存する。ELISA は一般的な測定方法の一つである。識別を担当する抗体を平板に固定し、抗原を導入して蛍光または吸収スペクトルで検出する。この方法は感度が高いが、数時間の固定と育成が必要である。

我々のグループでは、溶液中の癌細胞の数を測定するためのテラヘルツ化学顕微鏡

(Terahertz Chemical Microscope : TCM) を提案し開発している。本研究では、ビオチン標識 AE 1/AE 3 をアビジン-ビオチン結合によりセンシングプレートに固定し、抗原抗体結合反応により肺腺癌細胞をセンシングプレートに固定し、溶液中の肺腺癌細胞の検出に成功した。

2 実験・結果

溶液中の肺腺癌細胞を検出するために、まず、アミノカップリング法を用いて、誘導板の SiO₂ 膜にアビジンを固定した。この過程で、センシングプレート上の SiO₂ 膜をアセトンとエタノールで洗浄し、2-(カルボキシメトキシ)エチルト

リクロロ水素シリコンを用いてエステル基を改質し、HCl を用いてエステル基をカルボキシル化した。アビジンのアミノ基とセンシングプレート上の SiO₂ 膜上のカルボキシル基との反応を促進するために、N-ヒドロキシコハク酸イミド (NHS) と 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDC) を用いてカルボキシル基を活性化した後、アビジン-ビオチン結合法を用いて、ビオチン標識を有する AE 1/AE 3 抗体をセンシングプレート上に固定した。最後に、抗原抗体結合法を用いて、異なる濃度の肺腺癌細胞 (1.0×10³細胞/ml, 1.0×10⁴細胞/ml, 1.0×10⁵細胞/ml) 溶液を反応させた。図 1 はテラヘルツ波強度の細胞濃度依存性である。細胞濃度が増えることでテラヘルツ波の強度が増加することが分かった。今後、測定数を増やし再現性を確認していく。

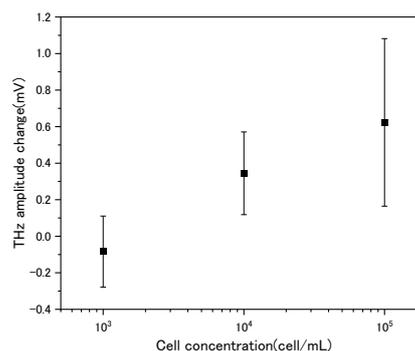


Fig1. The average change of terahertz amplitude before and after the reaction of lung cancer cells with different concentrations