

マイクロ液滴を用いる血中循環がん細胞の高感度検出

血中循環がん細胞 (CTC) は、腫瘍組織から血中に放出された細胞であり、早期診断や再発・転移の予見、治療評価等に利用可能なバイオマーカーとして注目されている。血液には 1 mL あたり数十億個の血球細胞が含まれており、それらの中から微量の CTC を検出するためには CTC を濃縮するプロセスが必須である。これまでに細胞のサイズや密度の違いに基づく単離法や抗体を用いて選択的に捕捉する手法が報告されている¹⁾。しかし、がん細胞が持つ多様性や上皮間葉転換により、同じ腫瘍組織から放出された CTC でも個々の性質や表面状態が異なる。そのため、表現型に依存した既存の濃縮法では単離あるいは捕捉されない CTC が存在し、ごく微量の CTC の検出は困難であった。

Wang らは、直径約 45 μm のマイクロ液滴を用いた CTC の濃縮とリアルタイム PCR (qPCR) による CTC 特有の DNA の検出を組み合わせ、微量 CTC の高感度かつ特異的な検出を実現した²⁾。この手法では、血中細胞、細胞溶解剤および qPCR 用試薬を含む溶液をマイクロ流路内で液滴として油相に分散させる。その後、各液滴内で qPCR を行って CTC を検出する。マイクロ液滴中では血中と比較して CTC 濃度 (個/mL) が相対的に高くなり、微量の CTC を検出可能である。また、単離や捕捉の操作を行わないことで細胞の損失を抑えた測定が可能である。

CTC モデル細胞を全血に添加した実験では、5 mL 中に 5 細胞を添加した試料でも検出が可能であった。また非小細胞肺癌患者の血液試料を用いた検討では、特定の遺伝子に変異を持つ患者を高い感度と特異性で識別可能であった。さらに、本手法では複数の遺伝子を同時に検査することが可能である。一部の患者の血液からは薬剤耐性に関連する他の遺伝子変異を持った CTC が検出され、治療効果の評価等に活用できることが示唆された。

現在の CTC 検査では血中細胞数による診断のみならず、個々の遺伝子情報やタンパク質・代謝物等の解析も行われている。これらの指標は病態の詳細な把握の一助となる一方、検査に時間やコストを要するという面も有している。本稿で紹介した手法では CTC の検出しか行えないものの、操作の簡便性やコストに分があり、臨床での日常的な検査に有用である。今後、対象がん種の拡大や検査キット化等が進められ、がん診断の新たなスタンダードとなることが期待される。

- 1) P. Radfar, H. Aboulkheyr Es, R. Salomon, A. Kulasinghe, N. Ramalingam, E. Sarafraz-Yazdi, J. P. Thiery, M. E. Warkiani : *Trends Biotechnol.*, **40**, 1041 (2022).
- 2) J. Wang, X. Liu, J. Li, W. Chen : *Anal. Chem.*, **96**, 6881 (2024).

〔静岡県立大学薬学部 古庄 仰〕

連続再生イオン性不純物除去装置の作製と応用

昨今、半導体産業や原子力発電所において、 $\mu\text{g}\sim\text{ng/L}$ オーダーで液中に存在する超微量の金属などのカチオンや、ハロゲン化物などのアニオンを高感度分析する必要が高まっている。

多種存在するイオン性成分を分離定量する際に、イオンクロマトグラフィー (IC) は有用である。本稿では、現代の IC システムの感度向上を担うキーデバイスの一つである、水の電気分解とイオン交換体を介した、選択的なイオンの電気泳動を利用した電気透析デバイスを紹介する。

高濃度の試料マトリックスの存在は、対象とするイオン成分の測定を妨害する。そのため、電気透析式連続再生アニオンまたはカチオン不純物除去デバイス (それぞれ CR-ARD, CR-CRD) が用いられている¹⁾。また、Sun らは 2 膜構成の CR-ARD について報告した²⁾。CR-ARD は電気透析溶離液発生器 (EDG) と組み合わせることで、インライン生成された KOH 溶離液の精製に優れた特性を発揮した。続いて、CR-CRD の作製と IC への応用について検討した³⁾。

CR-CRD は、酸溶離液中の陽イオン性不純物の除去に加えて、測定試料の前処理に役立つ。特に、原子力産業関連の水試料の前処理への応用が期待できる。原子力発電所の安全性を維持するためには、原子力発電所の水中のイオン性汚染物質をモニタリングし、腐食や沈着による損傷を除去または軽減することが必要である。一般に、冷却水には pH 安定剤として LiOH、中性子遮蔽剤としてホウ酸が意図的に添加される。高濃度の試料マトリックス (LiOH $\sim$ 3 mg/L, ホウ酸 $\sim$ 2000 mg/L) は、 $\mu\text{g/L}$ 以下の微量アニオンを測定する際に強い干渉をもたらすため、リチウムや他のカチオンを電気透析によってヒドロニウム型に変換して除去し、干渉を低減または除去する必要がある。CR-CRD はサンドイッチ構造になっており、内部の各流路はそれぞれ陽イオン交換膜とバイポーラ膜、陰イオン交換膜によって隔てられている。流路にはヒドロニウム型の陽イオン交換樹脂が充填されており、電気透析によって連続的な再生が可能である。

超純水に LiOH とホウ酸を添加し調製した 1 mM LiOH, 2000 mg/L ホウ酸溶液を原子力発電所の模擬水とし、微量陰イオン (F^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) を測定したところ、標準溶液 (50 $\mu\text{g/L}$) との一致率が 86.27 % $\sim$ 94.94 % であった。この結果は、試料の前処理効果が良好であり、本法の精度が高いことを示している。また、ダウンタイムなしで連続運転できるため、原子力産業における需要と非常にマッチしている。

- 1) Y. Liu, K. Srinivasan, C. Pohl, N. Avdalovic : *J. Biochem. Biophys. Methods*, **60**, 205 (2004).
- 2) Y. Sun, C. Liao, F. Zhang, Z. Xu, B. Yang : *Anal. Chem.*, **94**, 6924 (2022).
- 3) Y. Li, T. Zhang, F. Zhang, W. Chen, B. Yang : *J. Chromatogr. A*, **1722**, 464904 (2024).

〔熊本大学大学院自然科学教育部 香川 剛〕