

細胞チップによる単一細胞解析と診断技術

山村 昌平

ヒトは約60兆個の細胞からなる。細胞は遺伝子やタンパク質の発現、代謝、免疫系、分化増殖等のさまざまな生命活動を制御している。したがって、細胞の機能解析は、生体反応機構の解明だけでなく医療診断分野にも貢献すると思われる。細胞機能解析は、ある時は集団(細胞群)として、ある時は個々の細胞(単一細胞)として、目的に応じて、さまざまな手法で研究されてきた。代表的な細胞解析技術には、フローサイトメトリーと共焦点顕微鏡がある。フローサイトメトリーは、細胞の高速・大量解析やセルソーターによる分取も可能であるが、単一細胞の詳細な画像解析は困難である。一方、共焦点顕微鏡は、単一細胞の詳細な画像解析が可能であるが、大量解析には向いていない。

近年、細胞を単なる集団機能としてではなく、それぞれ高い情報能や応答性を有する生命体分子として単一細胞レベルでの解析(Single-Cell Analysis)も注目されている。重要なのは、1個の細胞を無作為に解析するのではなく、細胞集団を同時に一細胞レベルで解析し、その中から疾患などに関与する単一細胞の詳細な機能解析をすることである。たとえるならば、「木を見て森を見ず」では正確に見つけることが難しいので、「木も見て森も見る」ような解析手法が必要である。これらの問題点のブレイクスルー技術の一つとして、マイクロチップ技術が期待されている。近年、半導体製造分野の微細加工技術の進歩に伴って、ナノ・マイクロレベルでのデバイス作製が可能となり、マイクロチップ上でさまざまな分析化学反応などを行うMicro Total Analysis System(μ TAS)やLab on a Chipと呼ばれる考え方が提唱されてきた。最近では生体試料解析を目指したさまざまなバイオチップの開発も進み、DNAチップやプロテインチップなどに続いて、細胞チップも数多く研究されている。細胞のサイズが数~数十 μ mであることを考えると、マイクロチップで細胞を高精度に操作することは十分に期待できる。しかし、細胞チップの構造や機能を複雑にすると、煩雑になり制御が難しくなる。さらに、細胞の大きさ、特性などのバラツキや壊れやすさなどを考慮すると、精度の高い細胞チップの開発は難しい。細胞チップは、細胞や微生物の固定化技術に端を発しており、はじめは細胞のパターンニングが試みられた¹⁾。現在は、さまざまな細胞アッセイに対して、さまざまな形態の細胞チップの開発が進められている。その中でも単一細胞解析を目

指したものをいくつか紹介する。

たとえば、細胞チップを利用したモノクローナル抗体の作製である²⁾。免疫系におけるB細胞は、外部からの病原体となる異物(抗原)を認識する抗体分子を生成する。B細胞はヒトの場合、1億以上の多様性があり、それぞれ異なる抗体を生産できるとされており、その多様性をもってさまざまな抗原に対応している。それぞれのB細胞が産生する抗体はモノクローナル抗体と呼ばれる。通常モノクローナル抗体の作製は、B細胞とミエロマを融合させたハイブリドマを使用する。それに対して細胞チップでは、まず数十万個のB細胞を1個ずつマイクロアレイチップ上に配列し、その中から抗原刺激に特異的な単一B細胞を回収する。次にその抗体遺伝子からモノクローナル抗体を作製する。本方法は、B細胞の機能解析だけでなく抗体医薬の開発にも期待される。

細胞チップの診断分野応用としては、転移がんの予後診断のマーカーと期待される血中循環がん細胞(Circulating Tumor Cell, CTC)の検出があげられる。近年、がん細胞は他臓器へ血行性転移することが知られており、転移がんの早期診断・早期治療に向けCTC検出の重要性が高まっている。しかし、CTC検出には血液10 ml(白血球約5千万個)中に数個~数百個レベルの検出限界を求められるため、フローサイトメトリーやPCR法などの従来法では解析は難しい。Nagrathらは、マイクロ流路型チップ中に多数の抗体固定化マイクロポストを配置し、全血10 mlから数個のCTCを検出するCTCチップを開発している³⁾。これによって、簡易な方法で、転移がんの再発・転移を早期に発見でき、術後に負担の少ない治療が期待される。

以上のように、数十万~数千万個に1個レベルので希少な単一細胞が正確に解析できれば、これまで不可能だった細胞機能解析や各種疾患の発症前の超早期診断などが可能となる。それによって、従来の細胞解析技術に加えて、細胞チップも新しい技術、研究分野として確立され、実用化されることを期待したい。

- 1) Lopez, G. P. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 5877 (1993).
- 2) Jin, A. *et al.*: *Nat. Med.*, **15**, 1088 (2009).
- 3) Nagrath, S. *et al.*: *Nature*, **15**, 1235 (2007).