

誘電泳動による白血病細胞と正常白血球の分離

Separation of Leukemia Cells and Normal Leukocytes by Employing

Dielectrophoresis

今里 浩子^{1,3}, 山川 烈^{1,3}

1) 産業医科大学病院 臨床検査・輸血部

2) 九州工業大学大学院 生命体工学研究科 脳情報専攻

3) ファジィ・システム研究所

Hiroko IMASATO^{1,3}, Takeshi YAMAKAWA^{2,3}1) *Physics Department, University Hospital of Occupational and Environmental Health*2) *Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology*3) *Fuzzy Logic Systems Institute(FLSI)*

Abstract: Leukemia is a disease which is diagnosed by blood test following symptom onset. The patients are often transported to a hospital after they get into serious symptom.

An existing automatic blood cell counter can detect leukemia cells, only when the withdrawn blood includes many ones. However it exhibits low reliability. Therefore, the visual observation method has been still adopted to the blood test today. But this method takes time and a lot of troubles, furthermore, it needs three years at least to acquire knowledge and technique. Thus we need an automatic blood cell counter which can detect a small amount of leukemia cells in the blood of patients before disease development.

In this research, we employ the dielectrophoresis to solve this problem. We successfully measured the dielectrophoretic forces generated on normal leukocytes in uniform electric field. And leukocyte and erythrocyte were separated by dielectrophoresis. Furthermore, separation of leukemia cells and normal leukocyte could be successfully achieved.

Keywords: *blood cell counter, dielectrophoresis, separation of blood cells, leukemia cells*

Hiroko IMASATO

Iseigaoka 1-1, Yahata-nishi, Kitakyushu, 807-8555, Japan

Phone: +81-93-603-1611(Ext: 3071), Fax: +81-93-691-6933, E-mail: imasato@clnc.uoeh-u.ac.jp

1. はじめに

誘電泳動とは、不均一電場内におかれた物質が電場とそれにより誘導される双極子モーメントの相互作用により駆動される現象である。特定の物質に生じたこの駆動力を誘電泳動力という。この力は、下記のようにあらわすことができる。

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_0\epsilon_m r^3 \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \nabla E_{rms}^2 \quad (1)$$

ここで、 r は物質(粒子)の半径、 E は電界の強さ、 ϵ_m^* および ϵ_p^* は溶液および物質(粒子)の複素誘電率である。

$\frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*}$ は Clausius-Mossotti ファクター (F_{CM})

とよばれ、誘電泳動の方向を決定する重要なファクターである。

この力を利用して、現在、生体試料の分離・同定をはじめ、さまざまな分野で研究が進められている^[1]。

著者らは誘電泳動現象を利用した異常細胞の検出を目指している。そのためには、正常赤血球や正常白血球およびそれらの異常細胞の誘電泳動特性を理解することが必要である。

今回、著者らが設計した誘電泳動力測定装置およびクレーク・ギャップ電極^[2]を用い、その

電極内において、白血球に生じる誘電泳動力を測定し、正常白血球の誘電泳動特性を確認した。

さらに、白血病細胞と正常白血球の分離に成功した。

2. 実験

2.1 装置

著者らが考案および設計した誘電泳動力測定装置およびクリーク・ギャップ電極を図1および図2に示す。誘電泳動実験を顕微鏡下で行うためにクリーク・ギャップ電極をセットしたデバイスをこの装置の顕微鏡ステージにセットする。

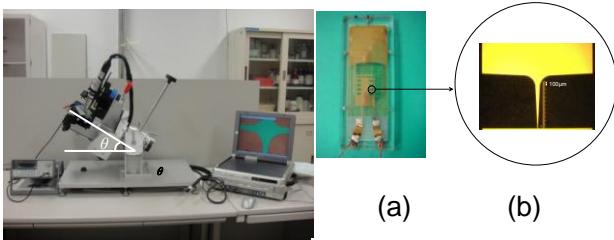


図1 誘電泳動力測定装置 図2(a) デバイス
(b) クリーク・ギャップ電極

2.2 血液細胞浮遊液調整方法

正常赤血球および白血球（顆粒球および単核球）は比重遠心法にて、ヘパリン加末梢血から分離することにより得た。白血病細胞（急性前骨髄性白血病（HL-60）細胞および急性リンパ性白血病（BALL-1）細胞）は理化学研究所より購入した。これらの細胞をを8.75%ショ糖液にリン酸緩衝液を1%加えた溶液（浸透圧284mOsm/Kg・H₂O）で洗浄し、同溶液中に浮遊させる。

2.3 赤血球と白血球の分離

調整した細胞浮遊液をデバイス内に注入し、電極に交流電圧を印加した。

60MHz, 10Vppの条件下にて分離に成功した。その結果を図3に示す。（左図は初期状態）

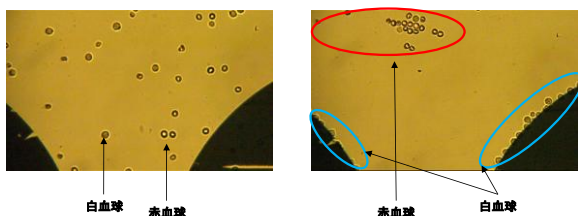


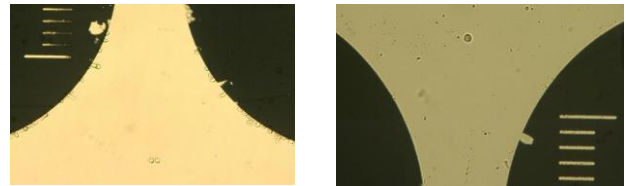
図3 赤血球と白血球の分離

2.4 白血球に生じる誘電泳動力の測定

調整した細胞浮遊液をデバイス内に注入し、電極に交流電圧を印加した。デバイスに供給す

る正弦波信号の電圧振幅および周波数を調整し、白血球に誘電泳動力を生じさせる。粒子が静止するよう角度 θ を調整することにより、誘電泳動力を測定した。

白血球のうち顆粒球とリンパ球の誘電泳動力の測定結果を図4(a), (b)に示す。それぞれの細胞に生じた正および負の誘電泳動力は、細胞が静止したその位置における力として測定され、その大きさは1MHz, 6.5Vppにおいて68fNおよび20KHz, 10Vppにおいて75fNであった。



(a) 顆粒球 (b) リンパ球
図4 顆粒球とリンパ球の誘電泳動力

2.5 白血病細胞と正常白血球の分離

白血病細胞と正常白血球を濃度がほぼ同じになるように混和し、細胞浮遊液を調整した。これをデバイス内に注入し、電極に交流電圧を印加した。

急性リンパ性白血病(BALL-1)細胞と正常リンパ球の分離および顆粒球系白血病の前骨髄性白血病 (HL-60)細胞と正常顆粒球およびそれぞれに成功した。前者の結果を図5に示す。（左図は初期状態）

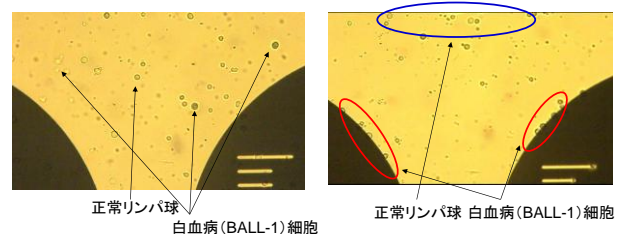


図5 BALL-1細胞と正常リンパ球の分離

3. むすび

正常および異常血液細胞を正・負の誘電泳動により分離可能であることがわかった。今後は、誘電泳動力の差を利用し、同方向の誘電泳動を示す細胞を分離することを検討する。

参考文献

- [1] Gascoyne P, Satayavivad J, Ruchirawat M. Microfluidic approaches to malaria detection. *Acta Tropica*, 89, pp. 357-369, 2004.
- [2] 山川 烈, 今里浩子, 誘電泳動力の測定方法および装置, 国内特許, 特願2007-262058, 2007年10月5日.