

DC 임피던스에 기반을 둔 순환종양세포 비표지 검출법

최형선¹, 박지흡¹, 전창수², 김학균³, 이정찬⁴, 김희찬^{4,5}, 정택동²

¹서울대학교 공과대학 바이오엔지니어링 협동과정

²서울대학교 자연과학대학 화학부

³국립암센터

⁴서울대학교 의학연구원 의용생체공학연구소

⁵서울대학교 의과대학 의공학교실

A label-free DC impedance-based microcytometer for circulating rare cancer cell counting

H.S. Choi¹, J.H. Park¹, C.S. Jeon², H.K. Kim³, J.C. Lee⁴, H.C. Kim^{4,5} and T.D. Chung²

¹Interdisciplinary Program, Bioengineering Major, Seoul National University, Seoul, Korea

²Department of Chemistry, Seoul National University, Seoul, Korea

³National Cancer Center, Goyang, Korea

⁴Institute of Medical and Biological Engineering, Medical Research Center, Seoul National University, Seoul, Korea

⁵Department of Biomedical Engineering, Seoul National University, College of Medicine, Seoul, Korea

jp592@melab.snu.ac.kr

Abstract

Quantification of circulating tumor cells (CTCs) in blood samples is believed to provide valuable evidence of overall state of cancer progression and biomarker based CTC detection method has been one of the most standardized way of detecting CTCs. However, as it recently became controversial in regard to dependability, label-free CTC detection methods are getting great attention worldwide. Here, we describe a label-free DC impedance-based microcytometer for CTCs by exploiting the difference in size between CTCs and blood cells. We were able to count the cells using the developed system with 88% efficiency without both labeling and a dilution process. The validity and efficiency of the system was further verified by examining blood samples from breast cancer patients.

연구 배경

암의 전이는 암세포가 최초의 종양세포에서 떨어져 나와 혈관 또는 림프관을 통해 다른 장기로 이동하면서 일어나는 현상으로 알려져 있다. 이에 따라 암의 전이와 순환종양세포(Circulating Tumor Cells)는 커다란 상관관계를 가지고 있다고 보고 순환종양세포 검출법에 대한 연구가 최근 큰 각광을 받고 있다. 단순

히 순환종양세포의 집계만으로도 암 진단 및 암 환자의 예후를 관찰 할 수 있다는 것이 순환종양세포를 이용한 진단법의 가장 큰 장점이다. 그러나 순환종양세포의 분포 개수가 수억 개의 혈중세포 중 하나로 매우 드물다는 한계가 있어 혈중종양세포를 효율적으로 검출하려는 노력들이 활발히 이루어지고 있다. 순환종양세포 검출법으로 가장 흔하게 사용되는 방법

은 항원-항체 반응 기반의 검출법으로 상피암에 발현되어 있는 단백질인 EpCAM(epithelial cell adhesion molecule)을 대상으로 한다. 그러나 최근 암세포가 상피세포에서 간질세포로 변이(epithelial-mesenchymal transition)되는 과정에서 EpCAM을 잃거나, 백혈구에서도 간혹 EpCAM이 발현된 경우가 있어 EpCAM을 기반으로 한 검출법의 한계가 나타나고 있다. 이에 따라 순환종양세포가 혈중세포(적혈구, 백혈구, 혈소판)에 비해 그 크기가 크다는 형태학적 특징에 기반을 둔 다양한 비표지(label-free) 검출법이 개발되고 있다. 본 연구에서는 마이크로칩 상에서 DC 임피던스를 이용하여 효율적이고 간편하게 순환종양세포를 비표지법으로 검출하는 기술을 제안하고자 한다.

연구 방법

마이크로칩 상에서 채널 벽에 세포 및 미세 입자가 부착하는 것을 방지하기 위하여 쉬스 유동 구조 안에서 샘플을 투입한다. 투입된 샘플은 다가전해질 젤 전극(polyelectrolyte gel electrodes) 사이를 지나가면서 전극 사이의 이온전류를 방해하여 임피던스의 정점을 발생시키는데, 그 저항의 변화는 지나가는 세포 및 미세 입자 부피에 비례한다(그림 1). 따라서 이 시스템을 통해 혈중세포(7.3-11.2um)에 비해 그 크기가 상대적으로 큰 암세포(16-25um)를 구별해 낼 수 있다. 본 연구에서는 개발된 시스템에서 순환종양세포를 검출하기 위한 임계값을 실험적으로 정의하고 기존의 표지 검출법과 비표지 DC 임피던스 검출법을 동시에 사용하여 시스템을 검증하였다(그림 2). 더 나아가 시스템의 유효성을 입증하기 위해 암환자와 정상인의 혈액샘플을 적용하였다

연구 결과

본 연구는 기존의 표지 검출법에 기반을 둔 순환종양세포 측정의 한계를 뛰어넘어 순환종양세포를 효율적이고 간편하게 비표지법으로 검

출할 수 있는 기술을 성공적으로 보였다. 본 시스템은 88%의 검출 효율성을 보였고, 환자 및 정상인 샘플을 적용했을 때 정상인 샘플에서는 임계값을 넘는 임피던스가 전혀 발생하지 않은 반면 암환자 샘플에서는 유효한 임피던스의 변화를 모두 측정해냄으로써 암 진단 시스템으로써의 유효성 및 효율성을 입증하였다.

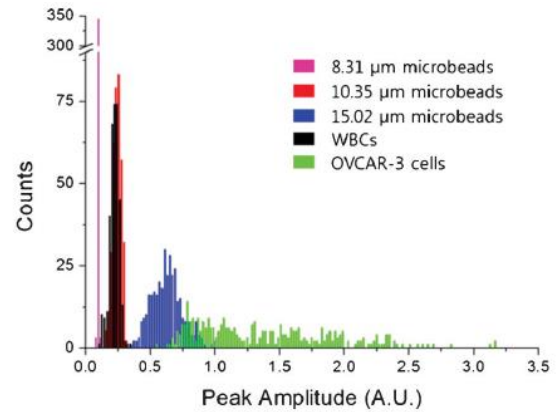


그림 1. 세포 및 미세 입자 크기에 따른 임피던스 진폭 히스토그램

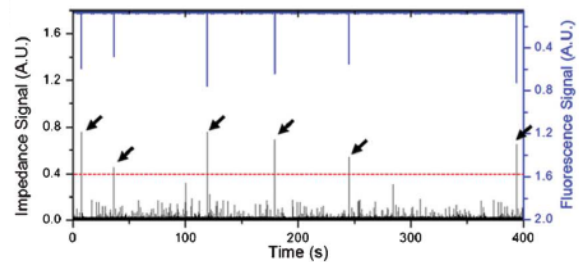


그림 2. EpCAM antibody를 이용하여 OVCAR-3 표찰 후 임피던스와 형광 동시 측정결과

Acknowledgements

이 연구는 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임(No. 2012R1A1A2008243)

참고 문헌

[1] A. L. Allan and M. Keeney, "Circulating Tumor Cell Analysis: Technical and Statistical Considerations for Application to the Clinic," *J. Oncol.*, pp.1-10, 2010.