

C304

3次元細胞アレイによる腫瘍細胞の浸潤評価

(名大院工) 小出寛展、松村拓、高野翔、(正) 大河内美奈、○(正) 本多裕*

【緒言】 細胞は個々に異なる機能を発揮するため、数千、数万の細胞の平均値を測定するのではなく、個々の細胞の機能の分布を調べることが、より高いレベルでの細胞の理解、組織の構築、さらには医療における診断の分野においても必要とされている。

細胞の形態や挙動の観察は重要な細胞機能変化指標である。接着、伸展、分裂、増殖、移動、分化などの挙動変化は、生命体ユニットとしての細胞の機能を表現している。そこで、我々は、磁性微粒子を細胞内に多数取り込ませることで、外部設置の永久磁石の磁力で細胞そのものをハンドリングし、培養器裏面に設置した剣山状鉄製デバイスを使ってアレイ状に配置させる技術を開発してきた。これは通常の培養基材が利用できるため、接着、伸展、増殖、移動などの細胞挙動を1細胞や少数細胞塊で観察するのに適している。本研究では、がん細胞の浸潤の様子を観察したので報告する。

【実験方法】 がん細胞としてがん遺伝子 *v-src* を導入した線維芽細胞 BALB/3T3/*v-src* およびヒトメラノーマ細胞を用いた。細胞に取り込ませる磁性微粒子として、我々が以前より使用している、Magnetite Cationic Liposome(MCL)を使用した。MCLを細胞培養液に 100pg/ml の濃度で添加し、最も取り込み量が高い、添加4時間後に磁気ラベル細胞として回収した。

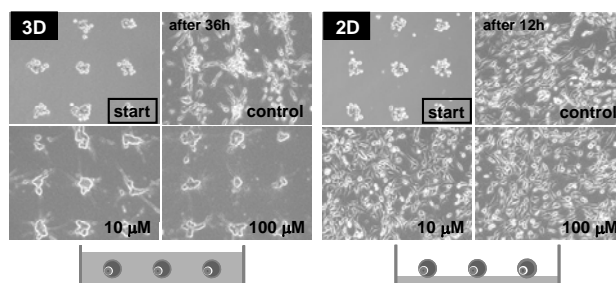
剣山状鉄製デバイスは、縦 1 cm×横 1 cm×高さ 0.4 cm の電磁軟鉄表面に、6000本の四角柱型のポール(縦 100 μm×横 100 μm×高さ 300 μm、ポール間隔 150 μm)を放電加工(FX10, MITSUBISHI、東京)で作製した。さらに、デバイスをネオジム磁石(表面磁束密度 0.8 T、直径 30mm、アズワン、大阪)で磁化し、コラーゲンコートディッシュの裏面に設置し、磁気ラベル細胞をアレイ配置した後、コラーゲンで埋包し、3次元がん細胞挙動評価モデルを構築した(図1)。

【実験結果】 提案した方法で、複数の細胞塊をアレイ状に配置でき、正常細胞(BALB/3T3)と比較してモデルがん細胞(BALB/3T3/*v-src*)で浸潤能が亢進した。

作製した3次元がん細胞挙動評価モデルで抗がん剤

感受性評価を行った。MMP阻害剤であるGM6001(CALBIOCHEM、USA)を使用し、上記3D培養と通常の2次元磁気細胞パターンニング培養とで比較した。3D培養では、濃度依存的なGM6001の浸潤阻害を観察できたが、2D培養では、3D培養では効果があった濃度でも、浸潤阻害は確認できず、細胞の形も紡錘形であった(図1)。これは、2D培養ではコラーゲンに包まれた状態ではないために、MMPがなくても細胞は平面上に拡がることのできたためと考えられる。また、メラノーマ細胞を蛍光ラベルして、共焦点レーザー顕微鏡を用いたZ軸方向の浸潤も評価したところ、誘引物質である血清濃度に応じてメラノーマの浸潤が観察でき、新規モデルはインベーションアッセイ代替法としても利用できることがわかった。

本手法は、3次元的な細胞の挙動を同時に多サンプルで観察できる特徴を有しており、細胞塊ごとの浸潤能の違いを細胞挙動の差異から明確に評価することができ、細胞機能解析に有用であろう。



使用抗がん剤: MMP阻害剤、GM6001
図1 抗がん剤による浸潤阻害

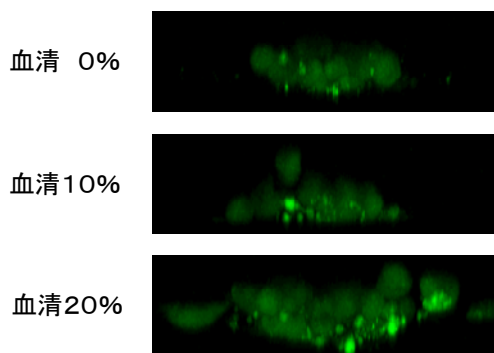


図2 共焦点レーザー顕微鏡でのZ軸方向の浸潤(72時間)

*Tel: 052-789-3215 Fax: 052-789-3214

E-mail: honda@nubio.nagoya-u.ac.jp