

マイクロパターン上への細胞接着過程のタイムラプス解析

ー緑茶カテキンを含む培養液中でのがん細胞と正常細胞の比較ー

Time-lapse analysis of cell adhesion to micropatterned surfaces

ーComparison of cancer- and normal-cells cultured in a medium with green-tea catechinー

早大理工¹, 埼大院理工², 早大高等研³, 早大ナノ機構⁴, 日赤看護大⁵坂本留実¹, 益田顕太郎¹, 柿沼瑛介¹, 伊藤耕作², 池滝健太郎², 松崎賢寿²,吉川洋史², 中林誠一郎², 山本英明^{1,3}, 佐藤裕子^{4,5}, 谷井孝至^{1,4}Waseda Univ.¹, Saitama Univ. Dept. of Chemistry², WIAS³, Waseda NTRC⁴, The Japanese Red Cross College of Nursing⁵○Rumi Sakamoto¹, Kentaro Masuda¹, Eisuke Kakinuma¹, Kosaku Ito², Iketaki Kentaro², Takahisa Matsuzaki²,Hiroshi Yoshikawa², Seiichiro Nakabayashi², Hideaki Yamamoto^{1,3}, Yuko Sato^{4,5}, Takashi Tanii^{1,4}

E-mail: sakamoto@tanii.nano.waseda.ac.jp

【背景・目的】近年、緑茶カテキン EGCG (epigallocatechin gallate) のがん転移抑制効果が注目されつつある。私たちは、有機シラン単分子膜パターン基板を用いて、EGCG の細胞接着抑制効果を定量評価してきており[1]、これまでに、(1)がん細胞の方が正常細胞より接着能が高いこと、さらに、(2)EGCG が、がん細胞の接着能を特異的に抑制することを報告してきた[2]。今回、EGCG が細胞接着のどの段階に作用するのかを調べるために、マイクロパターン上への細胞接着過程のタイムラプス観察を行い、EGCG の有無によって接着の様子がどのように変化するかを解析した。

【実験方法】オクタデシルシラン単分子膜（細胞非接着性）とアミノシラン単分子膜（細胞接着性）からなるパターンをガラス基板上に作製した。直径約 15 μm の円形の細胞接着領域を、中心間隔 100 μm で格子状に配列形成した。EGCG を含む培地と含まない培地で、細胞（転移性のヒト膀胱がん細胞 BxPC-3 とヒト膀胱細胞 1C3D3（正常細胞））を培養し、播種後 12 時間にわたって、3 分おきに位相差顕微鏡像を取得した。得られた画像から、円形パターン上での細胞の振る舞いを、①1 時間以上の接着 (stable)、②1 時間未満の接着 (transient)、③通過 (pass) の 3 つに分けて分類し (Fig. 2)、その個数を統計的に解析した (Fig. 3)。さらに、播種後 24 時間経過した時点でマイクロパターン上に接着していた細胞の接着面積を RICM (Reflection Interference Contrast Microscopy) によって計測した[3]。

【実験結果】Fig. 3 に示すように、EGCG 無添加時には、①1 時間以上の接着 (stable) に分類されるがん細胞の割合が、正常細胞のそれより高くなった。EGCG (80 μM) 添加時には、③通過 (pass) に分類される割合が、がん細胞で特異的に増加した。また播種後 24 時間経過時点での細胞接着面積については、EGCG 無添加時にはがん細胞の方が正常細胞より大きくなるのに対し、EGCG 添加時にはがん細胞特異的に減少した。これらの結果は、EGCG が特異的にがん細胞の付着や接着面積の拡大を抑制することを示している。さらに、正常組織へのがん細胞の接着ががん転移の契機となることを考慮すると、EGCG による上記の接着抑制効果が転移抑制に寄与することも示唆している。

[1] T. Tanii et al., Jpn. J. Appl. Phys. 50 (2011) 06GL01.

[2] 益田顕太郎他, 第 60 回応用物理学会春季学術講演会 29p-G17-6.

[3] L. Limozin et al., Chem. Phys. Chem. 10 (2009) 2752-2768

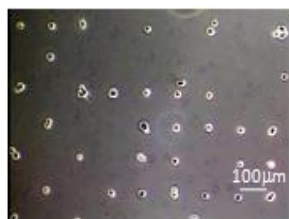


Fig. 1 BxPC-3 cells adhered on micropatterns in a cell-culture medium without EGCG.

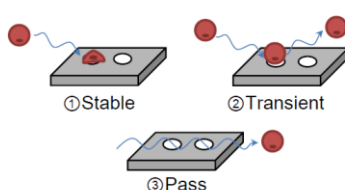


Fig. 2 Classification of cell behavior on micropatterns.

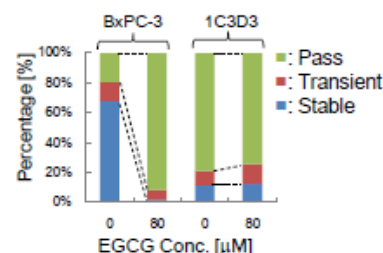


Fig. 3 Behavior of BxPC-3 and 1C3D3 cells on micropatterns at different concentrations of EGCG.