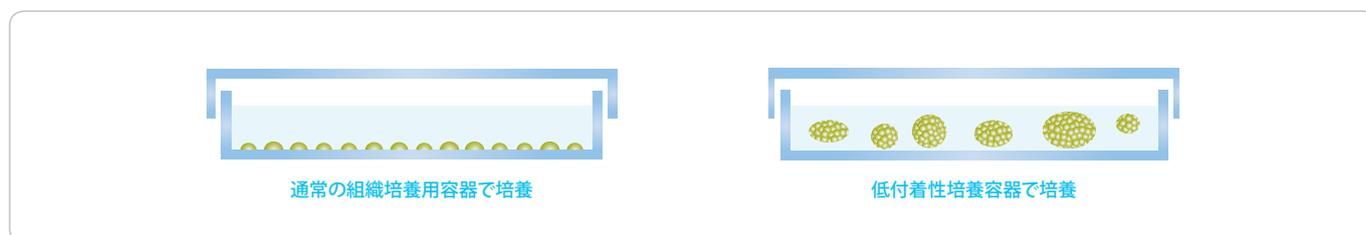


HydroCell™ を利用した がん細胞株スフェロイド形成

がん細胞の *in vitro* 研究において、従来用いられていた単層培養ではなく、より生体内のがんに近いと考えられる細胞塊（スフェロイド）培養が注目されています。ある種の抗がん剤の培養細胞での作用は、単層培養した場合とスフェロイドとは異なる挙動を示すことがあります。また、がん再発の原因のひとつとして注目されているがん幹細胞は、がんスフェロイドを形成すると共にスフェロイド内で増殖および維持されていることが明らかになってきました。さらに、これらのがんスフェロイドから分泌されるエクソソームは癌の転移にも関係しています。このようにがんスフェロイドは、薬剤スクリーニングに加えて、がんの発生や転移メカニズムにおいても注目されています。

細胞のスフェロイドの *in vitro* 形成には、ハンギングドロップ法、旋回培養法、低付着性培養容器による培養などが知られています。これらの方法のうち、低付着性培養容器による培養法では、操作が簡便なことから多く使用されています。通常の培養容器で増殖した付着性の細胞は、低付着性の容器で培養すると、細胞自身が持つ性質により、細胞同士が付着してスフェロイドを形成します（図1）。この際、細胞が少しでも培養容器に付着すると、スフェロイドがいびつな形になったり、形成効率が低くなるため、より低付着性の培養容器を使用する事が重要です。



（図1）低付着性培養容器によるスフェロイドの形成

セルシード社の *HydroCell™* は、超親水性ポリマーを培養表面に固定化させた超低付着性細胞培養器材で、マクロファージの浮遊培養、ニューロスフェア、ES細胞での胚様体形成、等様々な細胞種でのスフェロイド形成

の実績があります。本稿では、*HydroCell™* を使用した癌細胞株のスフェロイド形成方法と実績についてご紹介いたします。

■ *HydroCell™* フラスコを利用したがん細胞株スフェロイドの大量培養

福島県立医科大学 医療一産業トランスレーショナルリサーチセンターでは、多種のがん細胞株を平面培養およびスフェロイドを作製し、遺伝子発現解析やゲノム解析、プロテオーム解析による網羅的な解析データベースを構築し、これらのデータを活用して、薬剤感受性試験などに活用しています。セルフアクトリー部門では、スフェロイドによる新規化合物のスクリーニング系を構築しています。ここでは、これらの解析に使用するために超低付着性細胞培養器材 *HydroCell™* のフラスコ

タイプを用いて、複数の解析に用いるのに十分なスフェロイドの調製を行いました。以下にその方法と結果を示します。細胞は $3-7 \times 10^6$ cells/*HydroCell™* T75 フラスコで播種し、それぞれの推奨培地で6-10日間培養し、スフェロイドの形成を行った。その結果、神経がん細胞、皮膚がん細胞、膵臓癌細胞、卵巣がん細胞など様々な組織由来のがん細胞株において、播種後2-6日後にスフェロイドの形成がみられました（図2）。