

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ゼラチンコーティング条件が肝細胞の形態に与える影響			
研究テーマ (欧文) AZ		Effect of gelatin coated surface on hepatocyte morphology			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ホンダ	名)ハルカ	研究期間 B	2015年～2016年
	漢字 CB	本田	晴香	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	HONDA	HARUKA	研究機関名	熊本高等専門学校
研究代表者 CD 所属機関・職名		熊本高等専門学校 生物化学システム工学科・助教			
概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)					
<p>一般的に、細胞外マトリクス (ECM) を基板にコーティングすると、動物細胞の接着・伸展は促進される。しかし申請者は、ECM のひとつであるゼラチンを高濃度で基板にコーティングすると、HepG2 細胞は基板に接着せず、細胞同士が集合したスフェロイドを形成することを見出した。そこで本研究では、ゼラチン濃度依存的な HepG2 細胞の形態変化を評価し、その要因を探ることを目的とした。</p> <p>0.1、0.5、1.0、および 2.0 wt% のゼラチン溶液をポリスチレンディッシュに塗布し、ゼラチンコーティング基板とした。各基板に HepG2 細胞を播種したところ、ゼラチン濃度が 1.0wt% 以上になると、HepG2 細胞はスフェロイドを形成した。UE7T-13 (ヒト由来間葉系幹細胞) を同様の条件で播種すると、UE7T-13 は全ての基板で接着・伸展したため、ゼラチン濃度が 1.0wt% 以上になると細胞接着が阻害される、という現象は HepG2 細胞特異的な現象である可能性が示唆された。</p> <p>この現象の要因を探るため、基板の接触角を評価した。ゼラチン濃度 1.0 wt% 以上のコーティング基板は、常温では液滴をはじく疎水的な表面であったが、37°C のインキュベーター内に置くと液滴は基板上に広がった。そこで、基板から溶出したゼラチンが細胞形態に影響を与えていると考え、培地にゼラチンを添加して形態を評価したが、HepG2 細胞はポリスチレンディッシュ上と同様に伸展した。また、ゼラチンを基質とする MMP-2 (マトリックスメタロプロテアーゼ) の分泌量は、各条件で大きな差はなかった。</p> <p>以上の結果より、ゼラチン濃度 1.0 wt% 以上のコーティング条件では、HepG2 細胞の接着は阻害されてスフェロイドを形成することがわかった。その要因を特定することはできなかったが、本研究成果の一部について、第 65 回高分子討論会にて発表を行い、今後の課題に関して有意義な知見を得ることが出来た。HepG2 細胞の接着は培養初期 (～12 時間) ですでに阻害されていることから、基板の表面状態 (表面電荷、粗さなど) が形態に強く影響を与えていると考えており、今後も HepG2 細胞と基板の相互作用について、詳細な検討をしていく予定である。</p>					
キーワード FA	HepG2 細胞	細胞外マトリクス	ゼラチン		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	ゼラチンコーティング条件が肝細胞の形態に与える影響							
	著者名 ^{GA}	本田晴香, 後藤大樹	雑誌名 ^{GC}	高分子学会予稿集					
	ページ ^{GF}	2Pe087	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	65 (2)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

In general, culture substrate coated the extracellular matrix promotes cell adhesion and extension. However, we found that HepG2 cells did not adhere to the substrate, and assembled and aggregate with each other on the substrate coated high concentration of gelatin. Therefore, we evaluated gelatin concentration-dependent HepG2 cell morphology in this study.

Gelatin solutions of 0.1, 0.5, 1.0, and 2.0 wt% were coated on a polystyrene dish to prepare a gelatin-coated substrate. The gelatin concentration reached 1.0 wt% or more, HepG2 cells assembled and aggregated with each other and formed spheroids.

In order to investigate the cause of this phenomenon, the contact angle of the substrate was evaluated. The gelatin-coated substrate with gelatin concentration of 1.0 wt% or more was a hydrophobic surface at room temperature, but droplets spread on the substrate when placed at 37 °C. We considered that gelatin eluted from the substrate had an effect on the cell morphology. Therefore, HepG2 cells morphology was evaluated using gelatin containing medium. But HepG2 cells spread similarly to polystyrene dishes. Also, there was no significant difference in secretion of MMP-2 (matrix metalloprotease) in each condition.

These results suggested that gelatin concentration of 1.0 wt% or more inhibits HepG2 cell adhesion and forms spheroids. However it was not possible to clarify cause of inhibit cell attachment on gelatin coated surface. We will study the surface condition (surface charge, roughness etc.) of the substrate in detail and would like to clarify this phenomenon.