

マイクロパターン化ゼラチンシート上での骨芽細胞接着性試験

北海道大学大学院 環境科学院

環境起学専攻 環境適応科学コース

上杉 諒平

【緒言】

近年急速に高齢化が進み、骨粗鬆症や運動機能低下による骨折が原因となり、寝たきりになる老人も増えている。障害を受け、あるいは欠損した骨組織を修復再建できる人工骨の開発が望まれている。人工的骨再建の要件の一つは、骨芽細胞を支持する細胞外基質であるとされている。骨芽細胞は典型的な足場依存性細胞であり、細胞外基質に接着して、その物理的、化学的、生化学的、幾何学的な性質に基づき、分化・機能発現している。これまでに多数の材料が骨芽細胞の細胞外基質として研究され、中でも骨の有機基質の主成分であるコラーゲンの変性体であるゼラチンは、上記の諸性質の観点からも良好であり注目されている。しかしながら、これまでのゼラチン製細胞外基質では、その幾何学的性質が殆ど研究されていなかった。

本研究では、基質の幾何学的性質が細胞増殖に与える影響に着目し、3種類のマイクロパターンを付与したゼラチンシートを作製し、それぞれに対する骨芽細胞の接着性等を評価した。

【研究方法】

本研究では、ゼラチン膜にナノインプリント法で作製したモールドによって、ホール、ピラー、グループの3種類の形で、それぞれ $0.5 \mu\text{m}$ 、 $1 \mu\text{m}$ および $2 \mu\text{m}$ の大きさのパターンを転写し、培養液中で不溶化させるため、 180°C で熱架橋させた。なお、ゼラチンシートに十分な強度を持たせるために、バイオマテリアルであるナノセルロース膜を支持膜として用いた。このマイクロパターン化ゼラチンシート上で、マウス骨芽細胞株化細胞 MC3T3-E1 を 24 時間培養し、細胞接着数の測定および細胞の形態観察を行った。

【結果と結論】

3種類全てのパターンにおいて、 $0.5 \mu\text{m}$ から $2 \mu\text{m}$ へとパターンが大きくなるに従って細胞接着数が増える傾向が認められた。また、パターンのない平面のゼラチンシートと比較し、ホールとグループでは有意に細胞接着数が増加した。

細胞形態観察の結果から、グループでは細胞の遊走に配向性が見られた。ピラーでは細胞の伸展性が低く、細胞質を細長く伸ばす形態を取ることが観察された。また、ホールでは細胞質が非常に薄く広がる傾向が確認された。以上のことから、マイクロパターンの形および大きさによって細胞の接着性、形態および遊走の方向を制御できることが示唆された。