

生体親和性の異なる表面を有するマイクロパターン構造の創出と細胞反応の評価

Fabrication of Micropattern Structures with Different Biocompatible Surfaces and their Cellular Reaction

長岡技科大工¹, 物材機構², 東工大院理工³

○多賀谷 基博¹, 津谷 大樹², 山崎智彦², 生駒俊之³, 田中順三³

Nagaoka Univ. Tech.¹, Nat. Inst. Mater. Sci.², Tokyo Inst. Tech.³,

○Motohiro Tagaya¹, Daiju Tsuya¹, Tomohiko Yamazaki², Toshiyuki Ikoma³, Junzo Tanaka³

E-mail: tagaya@mst.nagaokaut.ac.jp

【緒言】生命の基本単位である細胞は、生体内でナノからマイクロメートルスケールの階層構造表面に接して活性を保っている。階層的に配置された細胞と足場表面の相互作用および細胞同士の相互作用によって生体組織は機能する。臓器再生を目的とする三次元細胞組織体の創出のためには、材料の表面構造と物性の両方の設計が重要となる。本研究では、光リソグラフィ技術を利用して生体親和性の異なる 2 種類の表面 (水酸アパタイトナノ結晶 (HAp) とエポキシ樹脂 (EPR)) のマイクロパターン構造を作製し (図 1)、三次元細胞組織体形成のための細胞培養基板を創出した。

【実験】基板は、図 2 のように作製した。HAp を湿式合成し、電気泳動堆積法により金基板へ堆積させた。その表面へ、EPR (化薬マイクロケム(株)製 SU-8 3010) をスピコートした。次いで、半導体レーザー (波長: 405 nm) のマスクレス描画によって、EPR を光パターン化した (径: 100 μm 、間隔: 100 μm 、膜厚: $2.9 \pm 0.7 \mu\text{m}$)。酸素プラズマ処理により、EPR 表面を超親水化した。その表面へ、肝細胞を播種し、2 時間培養した。評価は、原子間力顕微鏡 (AFM)、水の接触角、及び光学顕微鏡により行った。

【結果・考察】図 3 (a, b) に、AFM の高さ像を示す。HAp 表面は、ナノ結晶が均一に被覆されていた (R_{rms} 値: $6.4 \pm 0.8 \text{ nm}$)。EPR 表面は、繊維状形態であった (R_{rms} 値: $0.3 \pm 0.1 \text{ nm}$)。接触角は、HAp では $16.2 \pm 2.5^\circ$ 、EPR では 5° 以下であった。すなわち、生体親和性の高い HAp で被覆された凹面と生体親和性のない親水性 EPR 凸面から成るマイクロパターン構造が作製された。図 3 (c, d) に、肝細胞の光学顕微鏡像を示す。播種直後、多くの肝細胞様細胞が自発的に孔内へ集合する様子が観察された (図 3 (c))。時間の経過に伴い、孔内の細胞は HAp 表面で集合化した (図 3 (d))。すなわち、肝細胞は、異なる生体親和性表面を認識して、選択的に HAp 表面で細胞組織体を形成することを見出した。以上より、ナノ・マイクロ加工技術と生体親和性表面によって、組織体構築が可能な培養マイクロパターン基板の作製を実現した。組織再生のための技術として実用が期待される。

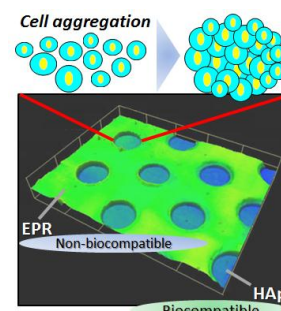


Fig. 1 Illustration of cell aggregation onto the HAp/EPR micropatterned surfaces.

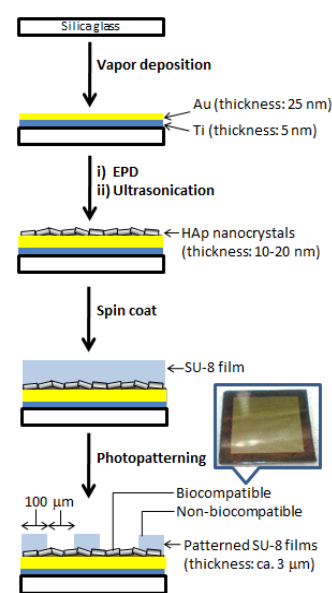


Fig. 2 Scheme of the fabrication process of the micropattern.

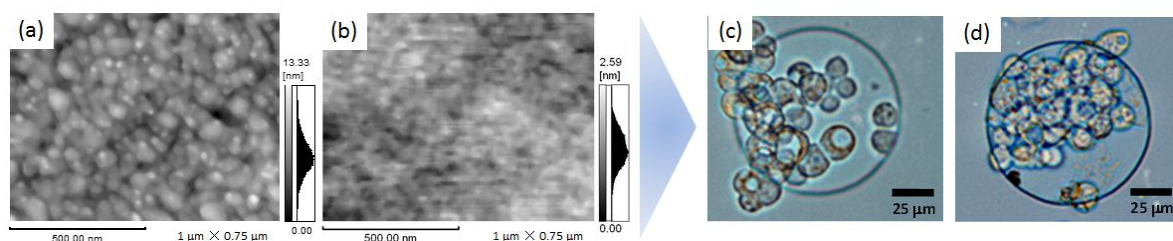


Fig. 3 (a, b) AFM topographic images of (a) HAp nanocrystals and (b) EPR surfaces, and (c, d) optical microscope images of the adhered and aggregated cells at the culture time of (c) 0 h and (d) 2 h on the micropattern.