

多機能性酸化物薄膜におけるマイクロパターン構造 及び電気刺激における細胞応答研究

Study on cellular response against the micro pattern structure and
electrical stimulation using multi-functional oxide thin films.

浅田 洋行¹, 山原 弘靖¹, 田畑 仁¹(1. 東大院工)

Hiroyuki Asada¹, Hiroyasu Yamahara¹, Hitoshi Tabata¹. Tokyo Univ.

E-mail: @bioxide.t.u-tokyo.ac.jp

【目的】近年、ナノ加工表面上での細胞応答に注目が集まっており、微細構造足場上で細胞培養することで細胞形状や増殖、多分化誘導に影響与えることが報告されている[1]。間葉系幹細胞は自己複製能を有し、骨格筋細胞や骨芽細胞への分化能を有する。本研究では間葉系幹細胞を対象として微細構造による静的な刺激に加え、動的な電気刺激を付加することで細胞の時間・空間制御を目的としている。電気伝導性と細胞観察に有利な可視光透明性を兼ね備えた酸化インジウムスズ(ITO)を用いて作製した透明マイクロ溝電極上で、マウスの間葉系肝細胞を培養しその細胞接着能を評価した結果を報告する。

【実験方法】フォトリソグラフィ法を用いマイクロ溝(3 μm)を作製し、マイクロ凹凸構造を有する鋳型としてスパッタリング法を用い ITO を堆積させ透明電極を作製した。この電極上に C3H マウス胎仔由来の間葉系幹細胞である C3H10T1/2 を播種・培養し、24 時間後に電気刺激を行った。電気刺激には ITO 電極を作用極とし、培養液中に浸した白金電極を対極、銀/塩化銀電極を参照極として 3 電極系を用いた。与える電位は+100mV vs Ag/AgCl とし、刺激時間は 30 分とし、細胞接着能を評価した。尚、印加電位+100mV vs Ag/AgCl については CV 計測により酸化還元反応が生じない電位域であることを確認済みである。

【結果】C3H10T1/2 を播種し 24 時間培養した後、電気刺激を行った細胞の位相差顕微鏡画像を Fig. 1 に示す。Fig.2 に 1mm² あたりの細胞接着数を示す。マイクロ溝の有無に関わらず、電気刺激の有無に有意差があった。溝構造上の細胞は構造に這うように接着することが先行研究より報告されている[2]。さらに細胞接着面積の減少に伴い、細胞に対する電気刺激の影響が減少していることが示唆されている。以上の結果は、酸化物の多機能物性はバイオ・医療応用に向けて新たな知見を与える。

参考文献

[1] K. Anselme et al. Acta Biomater. 6, 3824, (2010)

[2] Chang Ho Seo et al Macromolecular Bioscience, 11, 7, (2011).

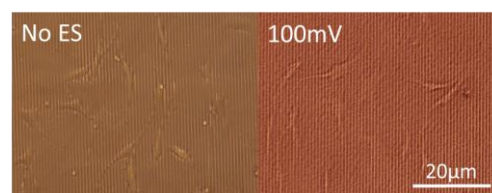


Fig.1 After electrical stimulation(ES).

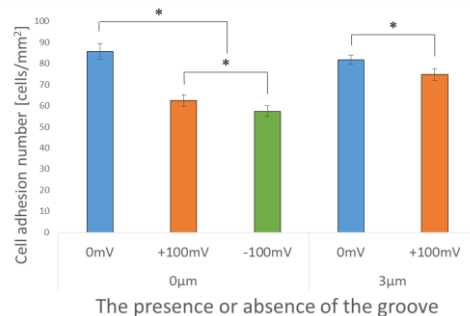


Fig.2 Micro groove width dependence