

カーボンナノウォール足場上での電気刺激下細胞培養における分化制御機構

Control mechanism of differentiation at cell proliferation on carbon nanowalls scaffold with electrical stimulation

名大院工¹, 名大未来社会創造機構² ◯(M2)市川 知範¹, 近藤 博基¹, 橋爪 博司²,
田中 宏昌², 堤 隆嘉¹, 石川 健治¹, 堀 勝²

Nagoya Univ. ◯Tomonori Ichikawa¹, Hiroki Kondo¹, Hiroshi Hashizume²,

Hiromasa Tananka², Takayoshi Tsutsumi¹, Kenji Ishikawa¹, Masaru Hori²

E-mail: ichikawa.tomonori@i.mbox.nagoya-u.ac.jp

はじめに 近年、細胞の培養の足場にナノメートルレベルの微細構造を設けることで、細胞の増殖挙動や分化機能発現に大きく影響を及ぼすことが報告された^[1]。我々は、多層グラフェンが基板上に垂直成長したカーボンナノウォール (CNWs) を細胞培養足場として着目し、基板表面の単位面積あたりに占める壁密度とその壁表面の化学終端構造が細胞の増殖率や形態に影響することを示した^[2-3]。さらに CNWs の電気導電性を利用して、CNWs に 10 Hz の方形波状の微小電流を印加したところ、CNWs 上で培養した細胞の増殖率が上昇することが分かった^[4]。本研究では細胞内応答の解明を目指し、CNWs 足場上培養中の細胞への電気刺激が及ぼす細胞内のイオン濃度や遺伝子発現の変化を調べることで、電気刺激を付与された細胞内分子機構を考察した。

実験方法 ラジカル注入型プラズマ励起化学気相堆積 (RI-PECVD) 装置を用いて Ti 基板上に CNWs を高さ 500nm 成長させた。この時、圧力をはじめとする堆積条件を制御することにより単位平面内の壁密度の粗密が異なる CNWs を用意した。電気刺激が与えられるウェルを製作し、ヒト由来骨芽細胞様細胞 (Saos-2) を 37°C、CO₂ 濃度 5% の環境で培養し、細胞播種から 24 時間後から CNWs に周波数 10~2MHz の方形波状の通電を行い、CNWs 上の細胞に電気刺激を与え続けた。細胞内カルシウムを Fluo-4-AM 染色した後、蛍光顕微鏡観察した。
結果と考察 10 Hz の電気刺激を与えた細胞で増殖が促進されたのに対し、それ以上の周波数では有意な増殖促進効果は見られなかった。また経時的に細胞内のカルシウムイオン濃度を蛍光観察した結果、10 Hz の電気刺激において細胞内の Ca²⁺イオン濃度の変化が観察された (図 1)。すなわち細胞内の Ca²⁺イオン濃度変化と細胞増殖の促進や分化の相関が示唆された。

謝辞：本研究は KAKENHI 15H02032 の支援を受けた。

- [1] M. Nikkhah *et al.*, *Biomaterial*, **33**, 5230 (2012).
- [2] M. Hiramatsu *et al.*, *Carbon Nanowalls* (2010).
- [3] H. Watanabe *et al.*, *Appl. Phys. Lett.*, **105**, 244105 (2014).
- [4] 市川ら、第 65 回春応物 (2018) 19a-C201-3

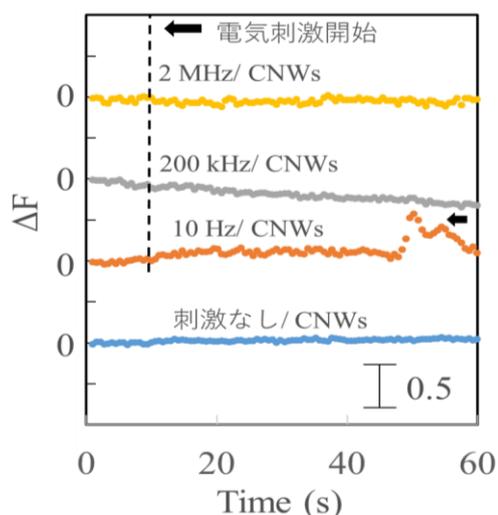


Figure 1. Frequency dependence of fluorescence intensity of cells stained by Fluo4-AM. Electrical stimulation was applied at 10, 200 k and 2MHz on CNWs.