

細胞の内部成長阻止



Cell interaction with microtextured surfaces.

マイクロテクスチャー表面の細胞相互作用

JL Ricci, R Rose, JK Charvet, H Alexander, CS Naiman.

Presented at the Fifth World Biomaterials Congress.

May 29-June 2, 1996. Toronto, Canada.

表 1： 細胞成長および形状パラメータ

	表面			
	コントロール群 (平滑)	1.75 μ m	6.5 μ m	12.0 μ m
8 日後の細胞コロニー mm ² (S.D.)	83.8 (11.0)	85.6 (5.6)	36.6* (4.7)	39.3* (6.1)
細胞付着面積 μ m ² (S.D.)	2666.4 (1534.9)	604.4 (247.5)	621.1* (250.0)	934.0* (493.1)
細胞離心率 長さ / 幅 (S.D.)	2.1 (0.9)	6.0* (2.6)	6.7* (3.4)	7.3* (3.4)
細胞密度 細胞 / mm ² (S.D.)	912.8* (135.5)	667.6* (115.8)	715.3* (114.9)	676.0* (134.6)
細胞配向性 (溝との相対性)	ランダム	>90% ± 40° 以内	100% ± 20° 以内	>95% ± 20° 以内
*p<0.05				

要約

緒言： インプラント表面のマイクロテクスチャーが組織相互作用に影響を与える可能性は以前から認識されている。これまでの研究において、我々はマイクログループ、粗面、複雑な表面性状などの様々な特定の表面微小形状と結合組織の線維芽細胞の in vitro 相互作用を観察してきた。ほとんどの場合、このような表面性状は、類似した組成であっても、線維芽細胞コロニーの増殖率および増殖方向において異なった（そして明らかな）効果がある。細胞コロニーの増殖に対する表面性状効果のメカニズムは解明されていない。本研究では、結合組織細胞密度、細胞付着面積（拡散）および細胞形状に及ぼす特定の表面微小形状の効果を調べた。その結果、付着細胞の増殖を制御する基本的メカニズムが、表面微小形状に存在する可能性が示唆された。

材料と方法： 生後 14 日の Sprague-Dawley ラットの後足伸筋腱から腱線維芽細胞 (RTF) を採取し、保存培養株として増殖培養した。ペニシリン-ストレプトマイシンおよび 10% のウシ胎仔血清を含むダルベッコ変法イーグル培地にて第二期～第四期継代細胞を増殖させ、全ての実験に備えた。移植片培養モデルに類似した「ドット」培養モデルを使用し、それぞれの表面上で細胞コロニーを増殖させた。これらの細胞を可溶コラーゲン (Vitrogen, Celltrix, カリフォルニア州パロアルト) 中に懸濁させ、20,000 個の細胞を含む 2 μ L の液滴を実験表面上に播種した。その表面は放射状細胞コロニーの増殖基板となった。光学電子顕微鏡および画像解析方法を用い、増殖率および増殖方向の他、細胞密度 (細胞数 / mm²)、細胞付着面積 (μ m²)、細胞配向性 (基板に対する配向性) および細胞伸長 (離心率、細胞の長さ・幅比率) を測定した。それぞれの測定においては、各実験グループから毎回 30 個の細胞を用いた。実験基板の表面は、60nm TiO₂ の蒸着と、コーネル大学国立 Nanofabrication センター (NY 州イサカ) のリソグラフィ法で製造したシリコンウエハー・テンプレートの鋳型から、溶剤キャストしたポリスチレンで構成されていた。基板には、鏡面のように平滑な表面 (コントロール) と、隆線と溝を 1.75、6.5 および 12 μ m 矩形波のマイクログループを準備した。t-検定による統計分析をおこなった。

結果： 3 つのマイクログループを施した表面の全てにおいて、細胞コロニー増殖、細胞付着面積、細胞離心率、細胞密度および細胞配向性 (表 1) に顕著な効果が確認された。細胞コロニーの増殖と拡散は抑制され、細胞離心率 (伸長) は増加した。また、効果的な細胞の平行配向がみられた。細胞密度は全ての実験群表面においてコントロール群に比べ減少した。

考察： 実験に用いられた表面微小形状は、明確に定義されることで、細胞の配向、形状変化、増殖率減少に効果的である。一般的に付着依存性細胞は付着し拡散して細胞分裂を繰り返している。今回の結果から、微小形状の表面で明らかにみられる増殖抑制効果は、マイクログループの細胞拡散抑制作用に基づいているという可能性が示唆された。またこの実験から、平滑面 vs マイクロテクスチャー表面の線維性カプセル化の違いは、マイクロテクスチャーによる線維芽細胞拡散増殖抑制作用が原因である可能性も示唆された。組織結合を制御するためには、この微小形状はインプラントの表面として潜在的な用途がある。

謝辞：本研究は、NSF SBIR フェーズ I 賞 9160684 により、Orthogen Corporation 基金でおこなわれた。