

線維性被膜化の抑制



In vitro effects of surface roughness and controlled surface microgeometry on fibrous tissue cell colonization.

線維組織細胞のコロニー化における表面粗さ及び制御された表面微小形状の in vitro 効果

JL Ricci, J Charvet, R Sealey, I Biton, WS Green, SA Stuchin, H Alexander.

Presented at the 21st Annual Meeting of the Society for Biomaterials.

March 18-22, 1995. San Francisco, CA.

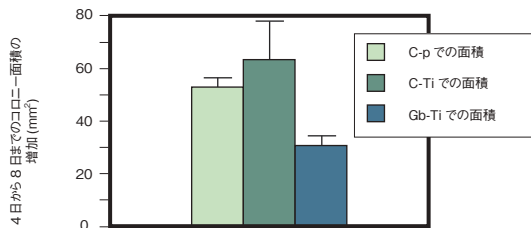


図1: 粗面仕上げをした(GB-Ti)表面と平滑(C-p および C-Ti)表面上のRTF細胞コロニー増殖

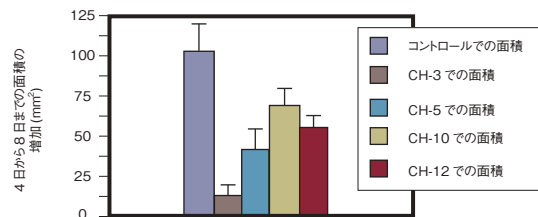


図2: 格子形状を3µm(CH-3)から12µm(CH-12)までにした表面、ならびにコントロールである平滑面(Con)でのRTF細胞コロニー増殖

要約

緒言: インプラントの軟組織被膜化は、インプラント材料の組成、界面化学および表面微小形状と関連していることがわかっている。骨内におけるインプラントの表面微小形状(あるいは表面性状)が線維性被膜形成に関与している。例えば、平滑面は粗面よりも厚い線維性被膜形成を誘導する。これは表面微小形状が線維性組織の増殖に影響することを示唆している。我々は、ブラスティング技術により粗くした表面、ならびに3~12µmの小さい四角の突起を設けた微小形状表面に対して、ラット腱線維鞘(FTF)細胞コロニー、およびヒト人工股関節全置換術の術中から獲得したインプラント被膜線維芽細胞(HICF)コロニーに関して in vitro における評価をおこなった。

材料および方法: 生後14日のSprague-Dawleyラットの後足伸筋腱からRTF細胞を培養した。HICF細胞については、セメント結合でない人工股関節の除去を含む、人工股関節全置換術を受けた患者から得た線維被膜組織サンプルから培養した。組織はサンプル近位の部位から採取し、保存株培養を作るために無菌状態で培養した。全て保存株として培養した細胞は、可溶コラーゲンと混合させ、「ドット」培養のために調合した。実験表面上では2µLの点に20,000個の細胞が含まれた。これらの細胞-コラーゲンのドットは細胞増殖の起点となり、増殖する細胞コロニーを形成した。そして4日後および8日後に、細胞コロニーを固定・染色し、画像処理/画像分析システムに接続したビデオカメラ付きの立体顕微鏡により、増殖面積を測定した。4日と8日における細胞コロニーの増殖は、コロニー面積あるいはその直径の増加とした。粗面はポリスチレンの培養板をグリットプラストもしくはビードプラストして作製した。コントロールの平滑面はマスキングをした部分を使用した。プラストに使用した材料によって表面形状は様々であった。媒体は整形外科用メタルインプラントの表面仕上げに用いられているものと同様で、表面形状の特徴も同様になった。規則的に加工した微小形状基板は、コーネル大学のNational Nanofabrication Facilityにて光リソグラフィー法を用い、製作精度テンプレートから溶液流涎ポリスチレンによって成形した。整形外科用チタン合金インプラント表面を模倣するため、表面は全てTiO₂の600-Å層でスパッタコーティングを施した。微小形状表面は、それぞれ明確な特徴を持つ、格子にしたもの、もしくは3、6、10および12µmのサイズの四角のポストからなるチェッカー盤模様の表面にした。

結果: 細胞の全コロニーは、ドット周辺では細胞増殖が観察され、4日までは安定した増殖を示した。無秩序に配向した細胞が、コントロール群の平滑面上で円状のコロニーを形成した。これは粗面上でも同じであった。規則性を持つ微小形状面は、増殖の方向が制限されているため、普通でない形状のコロニーとなった。個々の細胞レベルでは、基板表面構造に沿った配向、ならびに表面構造間の溝に配向していることが観察された。最小の微小形状面では、それぞれの細胞がいくつかの四角の突起表面に付着しているのが観察された。実験表面は全て、両タイプの細胞とも、細胞コロニーの増殖を著しく抑制した。RTFの細胞増殖を説明した図1に示されているように、コントロール群のTiコーティング表面(C-Ti)および処理無し表面(C-p)に比較し、グリット・ブラスティングのTiコーティング表面(GB-Ti)では細胞増殖の著しい抑制が観察された。全ての格子状表面はコロニー増殖の強い抑制作用を示したが、そのうち最も強い細胞増殖抑制は3µmの表面(図2)で観察された。図2もRTF細胞コロニーのデータを示している。

結論: 粗面ならびに一連の規則的な微細溝で培養したRTFおよびHICF細胞のコロニーは、増殖が抑制されることが明らかとなった。培養基板によってコロニーの細胞密度が高くなることはなかった。また、培養基板の表面積の増加によるものでもなかった。これらの結果からは、全体的な細胞コロニー増殖に対する細胞コンタクトガイドランス—細胞の配向および遊走に影響を与える基質の微小形状効果—の影響がみられた。in vitroで観察された粗面および微小形状の線維細胞増殖効果は、in vivoにおいて粗面が線維被膜化を起こしにくいという結果との関連も考えられる。その場合、規則的に加工した微小形状表面が、線維被膜化の効果的な抑制に利用できる可能性がある。

謝辞: 本研究はOrthogen Inc.の援助、および、Orthopaedic Research and Educational Foundationの助成金を受けたものである。