

微細な凹凸と細胞接着

掛川 貴弘

身の回りに溢れているスマートフォンやタブレット、テレビなどの工業製品は日進月歩の進化を遂げている。この進歩を支えるのがフォトリソグラフィーに代表される光を用いた微細加工技術である。微細化のもっとも進んだ半導体の分野ではナノメートルオーダー（1ナノメートルは100万分の1ミリメートル）の精度が求められ、現在では10ナノメートル台の線幅をもつ半導体チップの量産が開始されたことも報告されている。DNAの二重らせんが直径約2ナノメートル、典型的なヒト細胞の大きさが約10–30マイクロメートルほどであることを考えると、微細加工技術の細かさがわかる。また近年、より簡便にナノ構造を作製する手法としてナノインプリントと呼ばれる技術が注目されている。これは、柔らかい樹脂にモールド（型）を押し付け、樹脂を硬化させた後にモールドを剥離することで微細な凹凸を樹脂に転写するものである。比較的安価なラボ用装置であっても細胞と同じ、もしくはそれ以下のスケールでのナノ構造体の加工が可能であり、微細加工技術はますます身近なものになりつつある。

さて、我々の体を構成する約40兆個の細胞は、基底膜や繊維など、体の中においてマイクロ～ナノメートルオーダーのさまざまなスケールの微細構造にさらされている。近年、前述の微細加工技術をライフサイエンス分野に応用し、微細加工表面における細胞接着や形態、さらには分化に至るまでを制御する研究が活発に行われている。

微細な凹凸への接着などの応答は細胞によりさまざまであるが、これには微細構造の形状、サイズだけでなく、硬さや表面電位などの物理的性質や、材質や表面官能基などの化学的性質が影響する。さらに、素材と培養液中成分との相互作用や、さらには培養される細胞の種類や状態など、多くの要素が複雑に影響する。したがって、微細構造のみを切り出し議論することは困難であるが、ここでは微細構造と細胞の関わりについて概説する。

細胞の接着、という観点では、これまで多くの細胞種において、微細な溝構造に配向することが報告されており、溝の深さや間隔によりその配向性を制御する試みがなされている。脳を構成する主要な細胞である神経細胞は、長い軸索や、複雑に分岐した神経突起を伸ばして神経回路を形成している。Mahoneyらは、微細な溝構造の上で成長因子とともに神経細胞を培養することで、細

胞が配向し、神経突起をより伸長させることを報告している¹⁾。これにより、生体内での方向性を持った神経突起形成を模倣できると考えられる。一方、溝構造に应答しない細胞種も報告されており、溝構造に対する細胞応答のメカニズム解明が待たれる。また、細胞の接着表面を微細な柱構造にすることでその接着面積を低減させ、細胞を凝集させた塊として培養することも可能である²⁾。こうした細胞凝集塊はスフェロイドと呼ばれ、より生体内に近い構造を維持していると考えられることから、より高機能な細胞が得られることが期待されている。

ES細胞やiPS細胞に代表される幹細胞は、多分化能や自己複製能を有することから、再生医療のための細胞ソースとして期待が寄せられている。これを実現するには、目的とする種々の臓器、組織細胞への確実な分化誘導手法を確立する必要がある。従来、こうした幹細胞の分化誘導は、遺伝子導入や培養液中に成長因子を適切なタイミングで加えることにより達成されてきたが、これを微細表面構造によって模倣し、分化を制御することが試みられている。

骨や脂肪、軟骨、心筋や血管内皮などさまざまな細胞へ分化可能なこと、腫瘍化のリスクが低く、安全性が高いことなどから、再生医療研究に幅広く用いられている細胞として、間葉系幹細胞が知られている。このような幹細胞も、ナノメートルサイズのファイバーやチューブ、柱といった微細構造上での培養により分化誘導因子を添加することなく分化誘導が可能なことが多くの研究者により示されている³⁻⁵⁾。また、分化状態による細胞接着性の違いを利用した細胞選別など、さまざまな応用が考えられる。

これまで、溝や柱といった比較的単純な微細構造が用いられてきているが、より忠実に生体内の構造を模倣した複雑な形状を再現することができれば、細胞挙動のさらなる理解につながるのではないかと考えられる。こうした技術の進歩により、細胞そのものの理解から再生医療応用まで幅広い展開が期待される。

- 1) Mahoney, M. J. *et al.*: *Biomaterials*, **26**, 771 (2005).
- 2) Nomura, S. *et al.*: *J. Artif. Organs*, **9**, 90 (2006).
- 3) Seo, C. H. *et al.*: *Biomaterials*, **35**, 2245 (2014).
- 4) Peng, H. *et al.*: *Nanotechnology*, **23**, 485102 (2012).
- 5) Bucaro, M. A. *et al.*: *ACS Nano*, **6**, 6222 (2012).