

# 主 論 文 要 旨

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	美 浦 学
主 論 文 題 目： 高分子微粒子からなる微細構造表面の創製と 細胞接着の制御および細胞組織体の構築				
(内容の要旨) 再生医療をはじめとする先進医療分野では、生体類似の構造および機能を有する細胞組織体を生体外において構築する組織工学に注目が集まっている。生体内において細胞は隣接する細胞や細胞外マトリックスと細胞接着し、生体の階層構造を構築している。その際、細胞接着は細胞の形状を維持するだけでなく、細胞機能の発現にも深く関与している。生体外での細胞培養に用いられる培養基材は表面が平坦であるため細胞増殖性に優れる反面、細胞機能が低下する場合が多い。したがって細胞組織体を適切に再生および構築するためには、細胞接着および細胞機能を制御可能な新規機能性材料の開発が不可欠である。申請者は以下の通り、材料の表面微細構造に注目し培養基材の開発研究、並びにシート状の細胞組織（細胞シート）を作製するための培養システムの開発を行った。さらに、より複雑な構造を有する細胞組織体を構築するための基礎研究として細胞接着領域をパターンングした培養基材の開発を行った。 1. 高分子微粒子および単層粒子膜の作製と細胞培養基材としての評価 サブミクロン～ミクロンスケールのスチレン/アクリルアミド共重合体（poly(styrene-co-acrylamide), SA）粒子の作製を行った。次に作製した SA 粒子を用いて Langmuir-Blodgett 法によって単層粒子膜の作製を行った。電界走査型電子顕微鏡（FE-SEM）や操作型プローブ顕微鏡（SPM）等による観察の結果、単層粒子膜は六方最密充填で配列した微粒子で構成され、規則的な凹凸構造を有していることが示された。続いて単層粒子膜に対して正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞を播種し、細胞の接着形態や細胞骨格の形成などを光学顕微鏡や FE-SEM などを用いて観察した。その結果、表面微細構造によって細胞-基板間接着および細胞-細胞間接着が変化することを見出した。 2. 単層粒子膜を利用した細胞シートの作製 種々の基材における細胞単層の形成と細胞剥離について検討を行い、細胞シートを得るための表面特性とその方法について検討を行った。新たにポリスチレン（PS）粒子を作製し、粒子の種類と細胞剥離性との関連性について検討を行った。光学顕微鏡による観察や免疫染色等の結果、SA 粒子膜表面（粒子径 527 nm）において細胞シートの作製が可能であることが示された。 3. 任意の形状の細胞組織体の構築を目指した細胞接着性パターンング 複雑な構造を有する組織体を形成させるため、基板上において細胞接着領域を制御することを試みた。まずウシ血清アルブミン（BSA）に光反応性を付与し、これを基板上に塗布した後にフォトマスクを用いて UV 照射することにより、基板に細胞非接着領域をパターンングした。このような基材を用いることにより細胞の接着領域を制御することができた。また、フォトリソグラフィにより粒子膜のパターンングを行うことにより、基材上のパターンに応じた形状の細胞シートを得ることに成功した。				