



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Cell adhesion behavior on micro/nano patterned structures [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	加我, 公行
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12591号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65519
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Naoyuki_Kaga_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 加 我 公 行

主査 教授 横 山 敦 郎
審査担当者 副査 教授 吉 田 靖 弘
副査 特任教授 鈴 木 邦 明

学 位 論 文 題 名

Cell adhesion behavior on micro/nano patterned structures

(マイクロ・ナノパターン構造に対する細胞付着挙動)

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。審査論文の概要は以下の通りである。

インプラントと周囲組織との接触には、材質や表面性状が大きく影響すると考えられており、様々な研究がなされている。本研究においては、パターン転写されたプレートに他の材料をコートすることによって表面の形状と材質が異なる試料の製作を可能とする熱ナノインプリント法に着目し、マイクロ・ナノパターン構造を持つゼラチンシートとチタンシートの製作し、骨芽細胞及び線維芽細胞の付着挙動を検討した。

マイクロ・ナノパターン構造を有する石英マスターモールドから熱ナノインプリント装置（AH-1TC）にてパターンが転写されたレプリカモールドを作製した。

Groove 構造を持つゼラチンシートを作製し、ヒト正常骨芽細胞 NHOst とヒト歯肉線維芽細胞 HGF を 1 時間培養し、走査型電子顕微鏡（SEM）による形態観察とともに、光学顕微鏡による付着細胞数の算出及び配向性を観察した。さらに、Groove 及び Pillar 構造を持つチタンシートを作製し、骨芽細胞様細胞 Saos-2 を 1 時間、24 時間培養後、形態観察、付着細胞数の算出を行うとともに、24 時間後に蛍光顕微鏡にて接着斑の観察を行った。

ゼラチン及びチタンシートにマイクロ・ナノパターン構造が明確に付与されているのが観察された。Groove や Pillar 構造を正確に付与することは困難とされてきたが、ナノインプリント法の利用により、マイクロ・ナノ構造を持つ試料を容易に製作することが可能であった。NHOst 及び HGF については、Groove 化ゼラチンシート上において Plane よりも有意な接着細胞数の増加と配向性が認められ、チタンなどの金属材料表面と同様にソフトマテリアルにおいてもマイクロ・ナノ Groove 構造が、細胞接着に有効であることが示された。パターン化チタンシートに関しては、Saos-2 で

は、Pillar 構造においても Plane よりも有意な接着細胞数及び接着斑の数の増加が認められ、Pillar 構造も Groove 同様に細胞接着に影響を与えることが示された。マイクロ・ナノパターン構造の付与による細胞接着数の増加には、細胞足場の表面積の増加、さらに細胞の仮足がマイクロ・ナノパターンに伸び早期の接着の足がかりとなったことが影響したと推察された。また、細胞の仮足が Groove のリッジ部分に伸展していたことから、ビンキュリンがリッジに接着している可能性が示されたが、このことは、細胞の仮足がリッジ部分を早期に認識、接着することにより、Groove にそって配向した可能性を示唆している。

本研究において、学位申請者は、ナノインプリント法がマイクロ・ナノパターン構造を他の材料へ正確に転写する技術として有効であることを示し、マイクロ・ナノパターン形状は、骨芽細胞、線維芽細胞における細胞接着、配向性に影響を与えること、また、細胞接着には接着斑の影響が強く関与していることを明らかにした。

審査における各委員からの主な質問と回答は以下の通りであった。

1) マイクロ・ナノパターンの必要性について

チタンは、生体適合性が高い金属であるが、細胞の初期接着や配向をオッセオインテグレーションの確立やインプラント周囲炎の予防に適した状態にするためにマイクロ・ナノパターンを付与し、それに対する細胞の付着挙動を検討した。

2) ゼラチンの熱架橋について

ゼラチンの膨潤を防ぐために 200℃での加熱を行ったが、変質は生じなかった。成形方法としては薬剤も用いられるが、細胞毒性を考慮して本方法を選択した。

3) Groove の幅と contact guidance の関係について

本研究では 500 μm が適しており、2 μm では Plane と差が無かったことから、大きい場合は、細胞が構造を認識しにくいのではないかと考えられた。

4) マイクロ・ナノパターンと細胞接着について

骨芽細胞、線維芽細胞では、Pillar でも Groove と同様な結果が得られたが、パターンに沿って細胞が伸展するメカニズムについては、本研究ではビンキュリンの影響が推察されたが、明確にされていないことも多く、今後検討が必要である。

以上の様に、主査ならびに副査からの質問に対して、学位申請者は十分に説明し、回答をするとともに、今後の研究に対する展望も示した。

学位申請者は、本研究において、ナノインプリント法がマイクロ・ナノパターン構造を他の材料へ正確に転写する技術として有効であることを示し、マイクロ・ナノパターン形状は、骨芽細胞、線維芽細胞における細胞接着、配向性に影響を与えること、また、細胞接着には接着斑の影響が強く関与していることを明らかにし、その内容は高く評価された。よって学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。