

1. 緒言

近年、生体筋を工学応用するバイオアクチュエータの開発が行われている。従来のアクチュエータは高分子材料や形状記憶合金、空気圧を利用したものなどが存在するが、バイオアクチュエータに用いられる生体筋は軽量、柔軟、高効率という特性を有している。これまで行われてきた研究ではコラーゲンゲル内に筋細胞を包埋して培養する方法で作製されたものがある<sup>(1)</sup>。しかし、バイオアクチュエータの出力はまだ小さく、新しい培養方法や作製方法の開発が必要である。そこで、筋細胞を一方に配向させることでバイオアクチュエータの出力を向上させることを目標とし、本研究では、線維を培養液中に設置した際の筋細胞の配向性を検討した。

2. 実験装置および方法

実験にはマウス骨格筋由来の筋芽細胞株 C2C12 細胞を使用した。培地は 10% ウシ胎仔血清含有 DMEM もしくは 5% ウマ血清含有 DMEM を用いた。図 1 に配向制御実験用培養ディッシュの概略を示す。I 型コラーゲンでコーティングされたディッシュにナイロン製の直径 100 $\mu$ m の手術用縫合糸約 10 本を約 100 $\mu$ m の間隔で並べ、厚さ 6mm、幅 10mm、長さ 40mm のシリコンシートとステンレス鋼製の錘を置いて固定した。

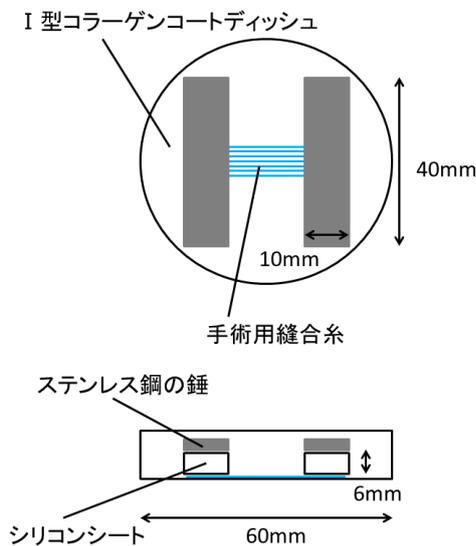


図 1 配向制御実験用培養ディッシュ

実験用ディッシュにはナイロン製縫合糸を設置したもの 5 枚、縫合糸やシリコンシートを設置していないもの 2 枚を用意した。それぞれのディッシュに、 $4.5 \times 10^4$  個/mL の細胞濃度で播種し、CO<sub>2</sub> インキュベータ内で 37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 環境下で培養した。播種後 3 日目には細胞が増殖してサブコンフルエント状態になったので、培養液を 5%ウマ血清含有 DMEM に

交換した。培地をウマ血清に交換後、7 日間培養を行い、培養液の交換は 3 日に 1 度行った。培養細胞の観察は倒立顕微鏡を用いて行った。

3. 実験結果および考察

培養開始から 3 日後の培養細胞の様子を図 2、10 日後のものを図 3 に示す。3 日目のもでは筋芽細胞が見られ、10 日目には線維状に細長くなり分化した筋管細胞が数個観察されたが、どの条件の培養細胞でも筋管細胞への分化は不十分であった。また、細胞は縫合糸の有無に関わらず様々な方向を向いていた。これは筋芽細胞が線維状の筋管細胞に分化できておらず、糸によってできたライン上に細胞の向きが誘導されるほどまでに成長できなかったことによるものであると考えられる。筋芽細胞が筋管細胞へと分化できなかった原因としては、分化に使用する培地のウマ血清の濃度が適していなかった、もしくは培養期間が短かったためなどが考えられる。ウマ血清濃度を変えた培地を用いた培養、あるいはさらに長い期間の観察を行うなどして適切な条件を探る必要がある。縫合糸による配向制御については、縫合糸同士の間隔をさらに狭めた状態で固定する方法を検討する必要があると考えられる。

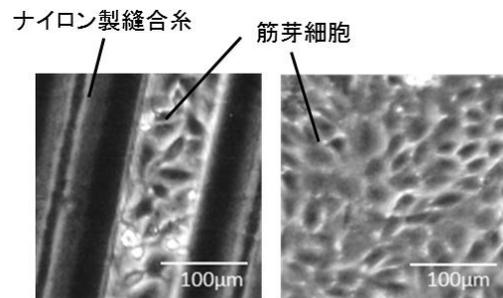


図 2 播種後 3 日目の培養細胞の様子

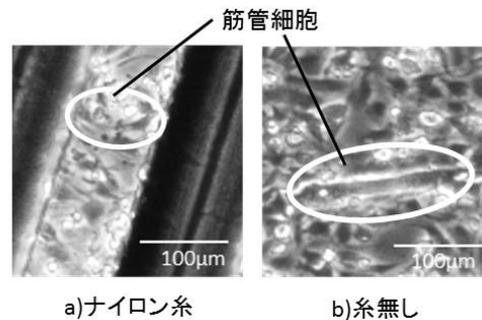


図 3 播種後 10 日目の培養細胞の様子

文献

(1)生体医工学、47 巻 6 号、560-565(2009)