

課題番号 : F-13-HK-0015  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名 (日本語) : PDMS 製マイクロデバイスを用いた血管様微小構造の構築  
Program Title (English) : Microvascular-like structure formation using PDMS microdevice  
利用者名 (日本語) : 守田明広, 前田 英次郎, 大橋 俊朗  
Username (English) : A. Morita, E. Maeda, T. Ohashi  
所属名 (日本語) : 北海道大学大学院工学研究科  
Affiliation (English) : Graduate School of Engineering, Hokkaido University

## 1. 概要 (Summary)

血管新生 (Angiogenesis) は胚形成, 創傷治癒や腫瘍成長といった生理的, 病理的過程において重要な役割を果たすことが知られている. ティッシュエンジニアリングにおいて, 新しく生産される組織に十分な酸素の供給と老廃物の除去をするために血管新生は不可欠である. そのため, 血管新生の理解を深め, それを制御することは, ティッシュエンジニアリングにおいて重要なステップアップとなる. 本研究では, ポリジメチルシロキサン (PDMS, Sylgard 184, Dow Corning, USA) 基質にパターンニングされたマイクログループを血管新生の構造的促進要因として用い, その構造的特徴が血管新生につながる血管様微小構造の形成に与える影響を検討することを目的とした.

## 2. 実験 (Experimental)

微細加工技術を用いて製作したマイクログループ実装デバイスの写真を Fig.1a に示す. デバイスには凹部の幅の異なるマイクログループ群がそれぞれ 4 つのエリアに配置されている (50  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$ ). マイクログループは深さ 100  $\mu\text{m}$ , 長さ 5000  $\mu\text{m}$  で一定とした.

厚さ 500  $\mu\text{m}$  のシリコンウェハにフォトレジスト SU-8 3050 を滴下し, 厚さが 100  $\mu\text{m}$  となるように 500 rpm で 10 秒, 1300 rpm で 30 秒の条件でスピコートした. これにマイクログループがパターンニングされたフォトマスクをマスクアライナー (ミカサ株) に装着し, 紫外線を 20 秒間露光した. その後, 現像を行いシリコンマスターを完成させた. PDMS 基剤 10 ml に対し硬化剤を 1 ml の割合で混合し十分脱気した PDMS をシリコンマスターに流し込み 110°C で 10 分間加熱硬化させて PDMS ネガティブモールドを作製した. 続いて PDMS ネガティブモールドに, 10:1 で混合した PDMS を流し込みカバーガラスを載せ, 110°C で 20 分間加熱硬化させ, PDMS マイクログループを完成させた. PDMS マイクログループをノンガラスボトムディッシュの底面に貼り付けることで実験デバイスとした. プロネクチン溶液をマイ

クログループに約 1 時間静置することでマイクログループ表面にコーティングした. その後, 血球計算法で  $4 \times 10^5$  cells/ml の濃度に調節した血管内皮細胞懸濁液とフィブリノーゲンを混合した溶液をデバイス内に加えた. トロンビンをデバイスに加えることにより, フィブリノーゲンに重合が起こり, 血管内皮細胞を含んだフィブリンゲルがデバイス表面上に形成される. その後, 培地を加え 2 または, 4 日間培養を行った.

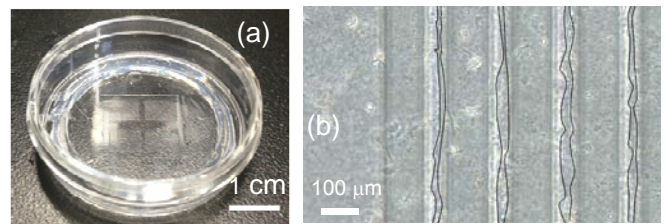


Fig.1 (a) PDMA device equipped with microgroove structure. (b) Rope-like structures of endothelial cells on day 4 of the microgroove culture.

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

フィブリンゲル中においては, デバイスに細胞を播種してから 4 日後ではフィブリンゲル中には培養から 2 日後に形成された索状構造が維持されていることが確認された (Fig. 1b). このことから, 三次元の構造のみで血管様構造の形成が誘発されることが確認された.

## 4. その他・特記事項 (Others)

共同研究者 : Dr. Irza Sukmana, Universiti Teknologi Malaysia, Malaysia

## 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

守田明広, 前田英次郎, 大橋俊朗, 日本機械学会北海道学生会第 43 回卒業研究発表講演会. 平成 26 年 3 月 8 日.

## 6. 関連特許 (Patent)

なし