

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 高分子の階層的自己組織化による再生医療用ナノ構造材料の創製
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

### 研究代表者

下村 政嗣 (東北大学 多元物質科学研究所 教授)

### 主たる共同研究者

宮内 昭浩 ((株)日立製作所 日立研究所 電子材料研究部 主管研究員)

山口 智彦 ((独)産業技術研究所 ナノテクノロジー研究部門 グループ長)

藤堂 省 (北海道大学 大学院医学研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

#### 3 - 1 研究課題全体

本研究は、ボトムアップナノテクノロジーにおいて自己組織化手法が有効であることを示すために、ナノ構造を有する高分子微粒子ならびに高分子薄膜を作製し、さらにそれらを複合化することで階層構造を特徴とする医療材料を作製する目的で、(1)自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の作製、(2)該微粒子ならびに規則構造体の構造解析、(3)自己組織化過程の理論的アプローチ、(4)医療デバイスに向けた細胞培養条件の確立に関する研究を進めた。

自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の作製では、高分子を良溶媒に溶解させ、貧溶媒を加えた後、良溶媒を蒸発除去することにより、高分子微粒子が得られることを見だし、そのプロセスを明らかとした。高分子としてブロックコポリマーを用いると、内部にミクロおよびマクロ相分離構造を有する微粒子が得られ、内部ナノ構造を有する高分子微粒子を作製することに成功した。さらに、微粒子内部に形成された相分離構造の一方を架橋・固定化し、一方を溶媒によって選択的に溶解させることにより、微粒子の形状と相分離の形状を反映した新規ナノ構造体が見いだされた。

自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の構造解析では、上記方法で得られたブロック共重合体微粒子を高分解能透過型電子顕微鏡によって、微細構造観察をおこない、微粒子内部にラメラ状の相分離構造が形成されていること、ブロック比率を変えるとシリンダーが集積した相分離構造となることがわかった。

また、和周波発生分光法によりハニカム膜表面の水構造を測定し、水素結合ネットワークが強固な構造であることが示唆された。

自己組織化過程の理論的アプローチでは、溶媒蒸発法による高分子微粒子形成過程について考察し、微粒子クラスターの辺縁のみで複製が起こるモードの存在が示唆された。

医療デバイスに向けた細胞培養条件の確立では、溶媒キャスト法によって高分子を製膜する過程でおこる結露と水滴の自発的な配列を利用した高分子ハニカム構造フィルムにおいて、孔径を変化させて神経幹細胞の増殖に及ぼす影響について調べ、神経幹細胞は平膜上と同様に神経細胞に分化するが、その形態や突起伸展は孔径に依存することがわかった。孔径3ミクロンのハニカムフィルム膜上において30～90ミクロンの球状の凝集体(スフェロイド様凝集塊)が形成されることを見いだした。また、増殖した細胞は幹細胞としての機能を持つことを明かした。また、血管内皮細胞の培養では、増殖速度や細胞外マトリックスの産生能が孔径に依存し、孔径5ミクロンで最大となることを見いだした。また、ハニカムフィルムが両面培養基材としての可能性を有することも見いだした。

### 3 - 2 . グループ毎

#### (1) 微粒子作製・集積グループ

このグループでは、自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の作製を担当した。

自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の作製では、高分子を良溶媒に溶解させ、貧溶媒を加えた後、良溶媒を蒸発除去することにより、高分子微粒子が得られることを見だし、そのプロセスを明かした。高分子としてブロックコポリマーを用いると、内部にマイクロおよびマクロ相分離構造を有する微粒子が得られ、内部ナノ構造を有する高分子微粒子を作製することに成功した。さらに、微粒子内部に形成された相分離構造の一方を架橋・固定化し、一方を溶媒によって選択的に溶解させることにより、微粒子の形状と相分離の形状を反映した新規ナノ構造体が見いだされた。

#### (2) 構造解析グループ

このグループでは、自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の構造解析を担当した。

自己組織化による高分子微粒子ならびに規則構造体の構造解析では、上記方法で得られたブロック共重合体微粒子を高分解能透過型電子顕微鏡によって、微細構造観察を行い、微粒子内部にラメラ状の相分離構造が形成されていること、ブロック比率を変えるとシリンドーが集積した相分離構造となることがわかった。

また、和周波発生分光法によりハニカム膜表面の水構造を測定し、水素結合ネットワークが強固な構造であることが示唆された。

#### (3) 数理シミュレーショングループ

このグループでは、自己組織化過程の理論的アプローチを担当した。

自己複製過程および自己複製を経て定常構造(Turing)に至る過程におけるエントロピー生成の変化、溶媒蒸発法による高分子微粒子形成過程について考察し、個体当たりのエントロピー生成が減少するので自己複製が起こるといふこれまで知られていた仮説が否定された。また、エントロピー生成は2次元的なパターンの特徴をスカラー量として抽出できる有望な熱力学的指標であることが示された。また、溶媒蒸発法による高分子微粒子形成においては微粒子クラスターの辺縁のみで複製が起こるモードの存在が示唆された。

#### (4) 医療グループ

このグループでは、医療デバイスに向けた細胞培養条件の確立を担当した。

溶媒キャスト法によって高分子を製膜する過程でおこる結露と水滴の自発的な配列を利用した高分子ハニカム構造フィルムにおいて、孔径を変化させて神経幹細胞の増殖に及ぼす影響について調べ、神経幹細胞は平膜上と同様に神経細胞に分化するが、その形態や突起伸展は孔径に依存することがわかった。孔径3ミクロンのハニカムフィルム膜上において30～90ミクロンの球状の凝集体(スフェロイド様凝集塊)が形成されることを見いだした。また、増殖した細胞は幹細胞としての機能を持つことを明かした。また、血管内皮細胞の培養では、増殖速度や細胞外マトリックスの産生能が孔径に依存し、孔径5ミクロンで最大となることを見いだした。また、ハニカムフィルムが両面培養基材としての可能性を有することも見いだした。

## 4 . 事後評価結果

### 4 - 1 . 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文 (原著)		口頭 (ポスター)		招待講演		その他 (著作など)	特許出願	
国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際&国内	国際	国内
80	11	103	469	31	50	68	16	66

論文、口頭発表数、招待講演数、特許出願数とも充分な量であるが、ハニカムフィルムの作製とその応用を中心とした論文発表と特許出願に集中している。また、特異なナノ構造を有する高分子微粒子に関する

る発表論文が、Langmuir 誌の 2005 年上半期におけるアクセスの多い論文となっている。

非平衡開放系現象を利用し、ブロック共重合体を用いて特異なナノ構造を有する高分子微粒子の作製に成功したこと、ハニカムフィルム製造装置を企業に設置するなど実用化を進めたことは評価できる。しかし、再生医療応用については細胞と材料の相互作用の基礎研究段階にとどまっている。

#### 4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

階層構造包含ナノ粒子およびハニカムフィルムの作製については、世界的にも研究例が増加しているが、代表者らが先導的立場にあり、いずれも世界を先導する独自成果であり、インパクトを与えている。また、ハニカムフィルムについては、既に医療分野への実用化開発が行われるなど技術的インパクトも大きい。

ハニカムフィルムは細胞接着に対して特異な性質を持っていることから、製造法が確立すればさらなる応用展開が期待できる。

#### 4 - 3 . その他特記事項(受賞歴など)

##### (1) 主な受賞

2004年 平成 16 年度高分子研究奨励賞受賞 田中 賢 助教

2007 年 nano tech 2007 国際ナノテクノロジー総合展・技術会議

nano tech 大賞 バイオテクノロジー部門 受賞 下村政嗣 教授

##### (2) 今後の展開、実用化に向けた展開

研究成果が評価され、平成 15 年度の JST 研究成果活用プラザ北海道「自己組織化法を用いた細胞増殖抑制機能を有する医療デバイスの開発」に、平成 16 年度地域新生コンソーシアム研究開発事業「細胞培養デバイス用微細孔径ハニカムフィルム膜の単一工程製造技術の開発」に、平成 19 年度 N E D O ナノテク・先端部材実用化研究開発「非対称ナノハニカム構造を持つ新規癒着防止膜とその自己組織化製造プロセスの研究開発」の研究に繋がった。

また、ナノピラーシートについて日立ハイテクノロジーズ社から、ハニカムフィルムについて帝人、富士フィルム社から上市、試験販売がなされている。