

「医療に向けた自己組織化等の分子配列制御による機能性材料・システムの創製」
平成 14 年度採択研究代表者

下村 政嗣

(北海道大学電子科学研究所 教授)

「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」

1. 研究実施の概要

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実証するために、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ものである。これらを実現するにあたり、(1) 粒子ならびに規則構造体の作製、(2) それらの構造解析、(3) 自己組織化過程の理論的アプローチ、(4) 医療デバイス化に向けた細胞培養条件の確立、を主たる研究課題とする分野横断的な研究チームを構成した。

これまでの研究において、溶媒交換がおこる非平衡過程を利用することで、DNA や生分解性高分子、ブロック共重合体など、様々な高分子が自己組織化的の単分散性のナノ微粒子になることを見いだした。さらに、非平衡過程の数理モデルを用いることで、単分散性高分子ナノ微粒子の形成機構が明らかになりつつある。また、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て作製した高分子ハニカム構造フィルムが、種々の細胞と特徴ある相互作用をすること、とりわけ神経幹細胞の形態、分化、機能の制御が可能であることを見出した。今後は、高分子ナノ微粒子とハニカム構造フィルムの複合化をはかり、新しい医療デバイスとしての自己組織化材料の可能性をさぐる。

2. 研究実施内容

(1) 高分子ナノ微粒子の作製

本研究の目的は、階層的に構造が制御されたナノ微粒子の作製方法の開発と、これら微粒子を集積化し、より高次の高分子構造体を作製することにある。本年度は、階層的な構造を持つナノ微粒子の作製を目的として、自己組織化析出法によるブロック共重合体のナノ粒子化とその構造解析を行い、非平衡下における微粒子形成の数理モデルを作成した。

ブロック共重合体は2種以上の高分子鎖が共有結合で結合した高分子であり、その鎖の比率と相溶性に依存して、数ナノメートルから数十ナノメートル程度の周期的なマイクロ相

分離構造を形成することが知られている。しかしながらブロック共重合体はその合成の難しさから、ナノ微粒子化する事が困難であった。我々は高分子の溶液に貧溶媒を加え、良溶媒を蒸発させて貧溶媒に置換することによって高分子の微粒子を作製する方法（自己組織化析出法）を用いて、ブロック共重合体（ポリ（スチレン-*b*-イソプレン）およびポリ（スチレン-*b*-アクリル酸ナトリウム））からなるナノ微粒子を作製し、粒子内および表面の微細構造にミクロ相分離構造が反映されることを見出した（図1）。

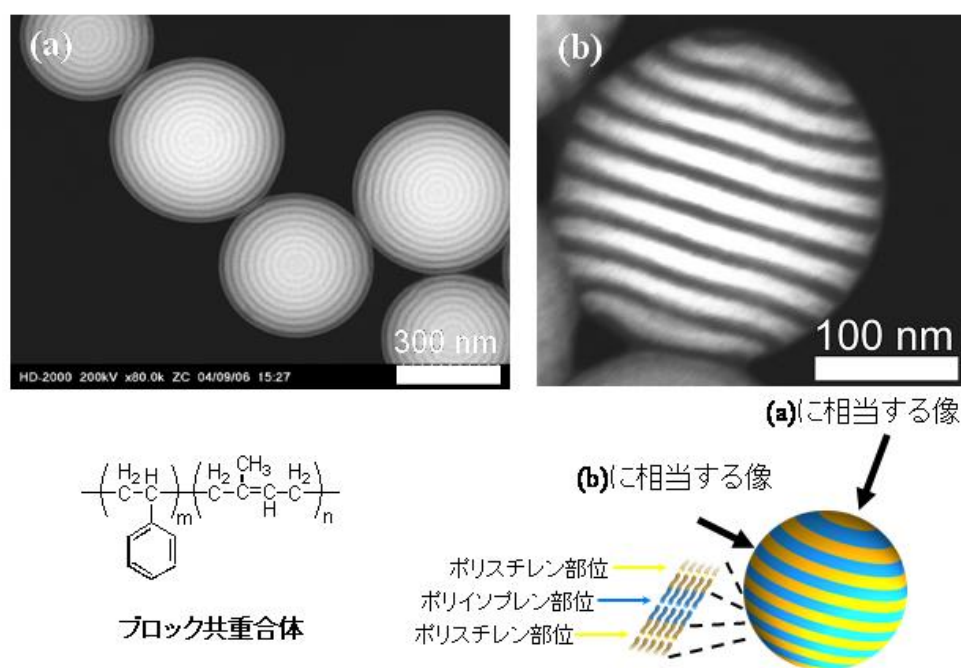


図1 自己組織化析出法によるブロック共重合体のナノ粒子化とその内部構造

(2) ハニカムフィルム上での細胞培養

すでに我々は、キャスト法による高分子フィルム作製時の結露現象に着目し、結露水滴の自己組織化的配列によって均一な細孔（数百ナノメートルから数百ミクロン）が規則的に配列した高分子膜（ハニカムフィルム）が単一プロセスで作製できることを見出している。また、ハニカムフィルムが、血管系、皮膚系、消化器系、神経系、循環器系などの正常細胞の接着形態、増殖、分化、浸潤性、骨格タンパク質の構造、細胞外マトリックス産生能などに大きな影響を及ぼすことを見出してきた。本年度は、ハニカムフィルムが神経幹細胞の分化・増殖を制御できることを見出した。本実験では、特別なサイトカインを添加しない培養条件下で、神経幹細胞が未分化維持したまま増殖することがわかった。比較実験である平膜上では神経幹細胞/前駆細胞は神経細胞に分化し、神経突起がランダム神経回路網を形成した。これに対し孔径 10 ミクロンのハニカムパターンフィルム上では神経幹細胞は神経細胞に分化し、突起をハニカムパターンの幹上に沿っ

て伸展し神経回路網を形成した。一方、孔径3 ミクロンのハニカムパターンフィルム上においては、直径約 30～50 ミクロンの球状の凝集体（スフェロイド様凝集塊）が形成された（図2）。

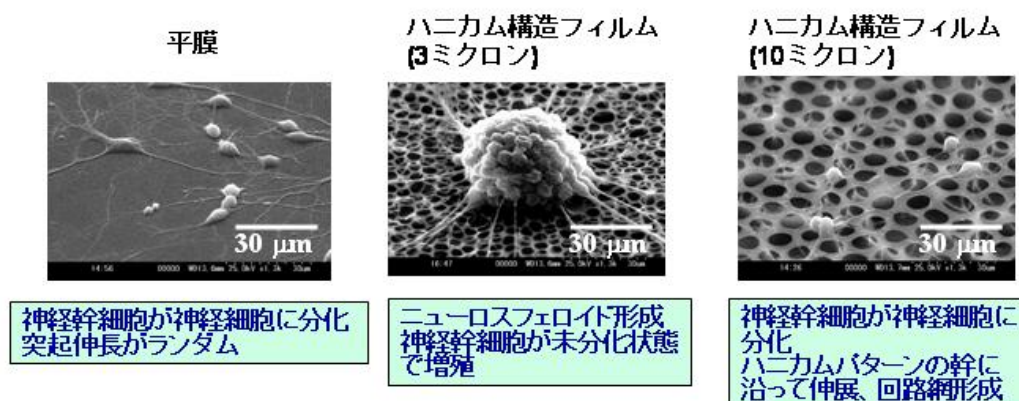


図2 神経幹細胞培養におよぼすハニカム構造フィルムの細孔径効果

3. 研究実施体制

「微粒子作製・集積化」グループ

- ①研究分担グループ長：下村 政嗣（北海道大学、教授）
- ②研究項目：自己組織化法によるナノ微粒子ならびに高分子構造体の作製、ナノ粒子の集積・構造化

「構造解析」グループ

- ①研究分担グループ長：宮内 昭浩（日立製作所、主任研究員）
- ②研究項目：ナノ微粒子・集積体の表面ナノ解析ならびに微粒子集積体の構造解析装置の開発

「数理シミュレーション」グループ

- ①研究分担グループ長：山口 智彦（産業技術総合研究所、主任研究官）
- ②研究項目：自己組織化の数理シミュレーション、非線形・非平衡ダイナミクスによる自己組織化機構解明

「再生医療」グループ

①研究分担グループ長：藤堂 省（北海道大学、教授）

②研究項目：微粒子集積体の再生医療応用

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文（原著論文）発表

- H. Yabu, M. Shimomura “Preparation of Self-Organized Mesoscale Polymer Patterns on a Solid Substrate: Continuous Pattern Formation from a Receding Meniscus Advanced”, *Functional Materials*, **15(4)**, 575–581 (2005)
- H. Yabu, M. Takebayashi, M. Tanaka, M. Shimomura “Super Hydrophobic and Lipophobic Properties of Self-Organized Honeycomb and Pincushion Structures”, *Langmuir*, **21**, 3235–3237 (2005)
- A. Tsuruma, M. Tanaka, N. Fukushima, M. Shimomura “Morphological changes in neurons by self-organized patterned films”, *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology*, **3**, 159–164 (2005)
- H. Mahara, T. Yamaguchi, Y. Morikawa, T. Amemiya, T. Yamamoto, H. Miike, P. Parmananda “Forced excitations and excitable chaos in the photosensitive Oregonator under periodic sinusoidal perturbations”, *Physica D*, **205**, 275–282 (2005)
- H. Xia, K. Ishii, T. Iwai “Hydrodynamic Radius Sizing of Nanoparticles in Dense Polydisperse Media by Low-Coherence Dynamic Light Scattering”, *Japanese Journal of Applied Physics*, **44(8)**, 6261–6264 (2005)
- Y. Hashimoto, Y. Matsuo, K. Ijro “Fabrication of Silver Nanowires based on DNA stretched by the LB Method”, *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, **30(3)**, 671–674 (2005)
- H. Yabu, T. Higuchi, M. Shimomura “Unique Phase-Separation Structures of Block-Copolymer Nanoparticles”, *Advanced Materials*, **17(17)**, 2062–2065 (2005)
- Y. Hashimoto, Y. Matsuo, K. Ijro “Fabrication of Silver Nanowires based on DNA stretched by the LB Method”, *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, **30(3)**, 671–674 (2005)
- H. Yabu, M. Shimomura “Single-step Fabrication of Transparent Superhydrophobic Porous Polymer Films”, *Chemistry of Materials*, **17(22)**, 5231–5234 (2005)
- J. Nemoto, M. Uraki, T. Kishimoto, Y. Sano, R. Funada, N. Obata, H. Yabu, M. Tanaka, M. Shimomura “Production of mesoscopically patterned cellulose film”, *Bioresource Technology*, **96(17)**, 1955–1958 (2005)
- Y. Nishiura, T. Teramoto, K. Ueda “Scattering of traveling spots in dissipative systems”, *Chaos*, **15**, 047509–047519 (2005)

- T. Yamaguchi, I.R. Epstein, M. Shimomura, T. Kunitake “Introduction: Engineering of self-organized nanostructures”, *Chaos*, **15(4)**, 047501 (2005)
- H. Mahara, T. Yamaguchi, M. Shimomura “Entropy production in a two-dimensional reversible Gray-Scott system”, *Chaos*, **15(4)**, 047508 (2005)
- H. Yabu, T. Higuchi, K. Ijro, M. Shimomura “Spontaneous Formation of Polymer Nanoparticles by Good-solvent Evaporation as Non-equilibrium Process”, *Chaos*, **15(4)**, 047505 (2005)
- H. Kitano, S. Tada, T. Mori, K. Takaha, M. Gemmei-Ide, M. Tanaka, M. Fukuda, Y. Yokoyama “Correlation between the Structure of Water in the Vicinity of Carboxybetaine Polymers and Their Blood-Compatibility”, *Langmuir*, **21**, 11932-11940 (2005)
- S. Tsukiyama, M. Matsushita, S. Matsumoto, T. Morita, S. Kobayashi, H. Tamura, H. Kamachi, M. Ozaki, S. Todo “Transduction of exogenous constitutively activated Stat3 into dispersed islets induces proliferation of rat pancreatic beta-cells.”, *Tissue Engineering*, **12(1)**, 131-140 (2006)
- H. Yabu, M. Shimomura “Surface properties of honeycomb-patterned films of fluorinated polymer”, *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, **445**, 125-129 (2006)
- Y. Fukuhira, E. Kitazono, T. Hayashi, H. Kaneko, M. Tanaka, M. Shimomura, Y. Sumi “Biodegradable honeycomb-patterned film composed of poly(lactic acid) and dioleoylphosphatidylethanolamine”, *Biomaterials*, **27(9)**, 1797-1802 (2006)

(2) 特許出願

H17 年度出願件数 : 17 件 (CREST 研究期間累積件数 : 47 件)