

自己組織化マイクロパターン高分子薄膜の開発と高度再生治療への応用

北海道大学創成科学共同研究機構

教授 山本貞明

1

1. 概要

本講演においては、標記タイトルで、北海道大学 科学技術振興調整費・戦略的研究拠点育成プログラム「北大リサーチ&ビジネスパーク構想」に於いて実施されている戦略重点プロジェクトの一つである「移植医療・組織工学」プロジェクトの目的、実施形態などを紹介し、その中で取り組んでいる研究「自己組織化を利用したポリマー材料微細加工とその細胞培養基材としての機能、機能発現機構の解明」について紹介した。

2. プロジェクトの目的・実施形態 一省略一

3. 研究内容紹介

ナノテクノロジーは、新規な機能を持った材料創成を可能とする基盤技術として、世界各国で研究が活発に行われている。材料の微細パターン形成に関するナノテクノロジーの観点からながめてみると、物質の自己組織化を利用した「ボトムアップ型」技術が次世代の微細加工技術として注目を集めている。我々は、これまで、自己組織化によるマイクロファブリケーションの研究を行ってきた。その結果、溶媒蒸発時の結露で生じた微小水滴が自己組織化的に規則配列することを見出し、これを利用したハニカムパターン高分子フィルムの製造方法を開発した。現在、このハニカムフィルムを使った細胞挙動の制御や医療デバイス開発に関する研究を展開している。ここではハニカムフィルムの製造方法、ハニカムフィルムの特徴、ハニカムフィルムの再生医療を目指した細胞培養足場材料への応用およびハニカムフィルムによる細胞挙動制御機構を明らかにすることを目的としたタンパク質や細胞とフィルム界面に関する最近の研究結果について紹介した。

3-1 ハニカムフィルムの製造方法・特徴

溶媒蒸発時の結露で生じた微小水滴が自己組織的に規則配列する。この規則配列した水滴を鋳型とすることでハニカムフィルム(数百ナメタから数百ミクロンの範囲にわたり均一な細孔が蜂の巣様に規則正しく並んだ多孔性高分子フィルム)が出来る。その製法は極めて簡単である。ガラスなどの基板上に高分子溶液をキャストし、高湿度雰囲気下で溶媒を蒸発させるだけである。

これまでにポリスチレンなどの汎用高分子、ポリカーボネートなどのエンジニアリングプラスチック、ポリイオンコンプレックスや熱可塑性エラストマー、ポリ乳酸などの生分解性高分子、さらに、耐熱性・耐薬品性を有するポリイミドでハニカムフィルムなど様々のハニカムフィルムが作製できる。水表面、ガラス、セラミクス、金属、シリコンウェハー、高分子、ハイドロゲル、など様々の材料表面で、しかも、複雑な凹凸構造を有する表面でもフィルムを作ることができる。材料と表面の選択幅が広いのが本方法の特徴である。

溶媒の種類、濃度、湿度(水蒸気の吹き付け流量)、基板の種類や温度、などによって、フィルムの孔径(空孔率)、膜厚、孔の貫通・非貫通が制御できる。現在までに孔径は0.2~50 μm の範囲で制御できている。作製したハニカムフィルムを延伸することによって、細孔形状を変えたり、ハニカムフィルムの二次加工によって様々のパターン化フィルムも作ることができる。その一例として、ハニカムフィルム表面に粘着テープを貼り付けた後、厚み方向に剥離することによって得られたピラー構造を持つポリマー表面を紹介した。

3-2 再生医療のための細胞培養足場材料への応用

ハニカムフィルム上での肝実質細胞、血管内皮細胞、心筋細胞の培養では、ハニカムフィルムの孔径や孔形状によって細胞機能、形態、増殖性を制御できた。血管内皮細胞と平滑筋細胞の共培養では、生体内の血管と類似した組織が形成されたことを紹介し、ハニカムフィルムは三次元共培養基材として優れたポテンシャルを持つ事を示した。胎生 14 日目のマウス大脳皮質組織から調製した神経幹細胞のハニカムフィルム上での培養では神経突起がハニカムパターンの幹上を伸展すること、特定の孔径ではスフェロイドが形成される事を紹介した。神経回路網がシナプスを形成し、神経回路としての機能が発現しているのかどうか？凝集体は神経幹細胞が未分化の状態を維持したまま増殖したものなのか？これらの問いに対する回答は今後の研究を待たねばならないが、ハニカムパターンが神経ネットワーク形成や機能、および神経幹細胞の増殖、分化に影響を及ぼしていることが期待できる。ハニカムパターンの幹により神経回路網を形成したり、増殖因子である EGF や FGF などの液性因子を用いることなくハニカムパターンの孔径サイズによって、神経幹細胞/前駆細胞の増殖・分化を制御できるようになるかもしれない。ハニカムフィルムは、神経幹細胞/前駆細胞の増殖のための Tool、及び損傷した神経組織再生を意図した組織工学材料としてのハニカムフィルムの可能性について言及した。

3-3 ハニカムフィルムとタンパク質や細胞との界面

細胞培養足場材料表面のマイクロパターンが細胞接着、進展、分化、増殖、形態などの、いわゆる細胞挙動に大きな影響を及ぼすことが報告されている。その理由の解明をねらって、細胞が表面接着する上で必要とされるタンパク質、いわゆる接着タンパク質の代表であるフィブロネクチンのハニカムフィルム上の吸着構造と心筋細胞及び血管内皮細胞の接着点形態について調べた。その結果、ハニカム形状によってフィブロネクチンの吸着構造が制御されることを見出し、その吸着構造と細胞の接着点形態との相関性に関する考察から、表面形状による細胞挙動の制御機構に関する仮説について紹介した。