

## 審査の結果の要旨

氏名 前田 康弘

分子細胞生物学などの進展に伴う細胞生理の理解と生体材料学の進歩を基礎にして生体組織工学などの新分野が誕生し、組織再生医療の実現に向けて活発に研究が行われている。同時に、細胞や微生物の高度な情報処理能力や物質合成能が明らかになり、これらをセンサやプロセッサなど生物素子として、または物質合成装置として応用する研究も行われている。他方、細胞外基質に関する研究から、ある種の細胞が、足場の化学的および物理的性質によって細胞形態や細胞機能に明白な影響を受けることが報告されている。足場の表面特性と接着細胞の相関が近年幅広く研究されている一方で、生体物質のマイクロパターニングや濡れ性の操作、また粘弾性分布制御など、足場表面特性を意図的かつ精密に操作することを通して特定の細胞機能を選択的に誘導するという試みも始まっている。

本研究では特に、表面微細形状変化に対する細胞応答に着目した。この研究分野においては、半導体産業で培われた微細加工技術、また近年では自己組織化現象を利用した技術を基盤として作製する溝や突起そしてハニカムといった微細構造と細胞応答との相関が研究対象とされてきた。異種はもとより同種形状においても、溝深さや突起間隔や孔径といったパラメータ差異により発現する細胞機能が異なることが報告されている。そのため組織工学においては、近年、3次元立体構造だけでなく表面微細構造設計も足場作製における重要な設計指針として注目を集めるようになってきている。

刺激応答性高分子ゲルは、外部刺激を通してその物性・化学的性質を可逆的に調節できるスマート材料である。これを利用することにより、表面微細形状を“動的”に調節しうる、全く新しい足場の創製につながるものと考えられる。そこで本論文では、温度応答性ゲルのマイクロパターニングと表面微細構造形成および表面形状の温度応答挙動制御により、刺激応答性表面微細構造を有する足場材料の開発を行った。同時にこの足場材料を骨芽細胞前駆細胞株の培養に用いることにより、その細胞足場材料としての可能性を評価した。本論文は以下の五章から成る。

第一章では、本論文の主目的であるスマート材料を用いたバイオマテリアル作製に関してまとめている。スマート材料によるバイオマテリアル研究の背景について述べ、最近注目を集めている、バイオマテリアルを通じた基礎細胞生物学研究や細胞工学研究に関する先行研究例を紹介している。最後に本論文の目的と構成について述べている。

第二章では、コロイド結晶の作製およびマイクロパターニングに関して論じている。ソフトリソグラフィおよび移流集積法を改良することにより、積層数を制御したコロイド結晶作製やマイクロパターン化を実現している。ソフトリソグラフィにおいては、静水圧で発生する水流に由来する剪断力により、従来対象とされていたナノ微粒子だけでなく、 $10\mu\text{m}$ 程度の微粒子でもコロイド結晶およびそのマイクロパターンが作製可能であることを示している。一方移流集積法においては、懸濁溶媒組成や水平固定化が微粒子膜の結晶性や広面積化に影響することを明らかにし、また表面張力の低減により、 $10\mu\text{m}$ より小さい微粒子のコロイド結晶膜形成が可能で

あることを明らかにしている。

第三章では、コロイド結晶を鋳型とする温度応答性多孔材料合成とマイクロパターンニング、およびゲルの膨潤収縮に伴う表面ハニカム構造の変化について述べている。光重合法とソフトリソグラフィーや移流集積法の組み合わせにより、流路やドットアレイやシートなど多様な形状のゲルの作製が可能であることを見いだしている。立体流路構造は2層構造体ゲルの作製を可能にし、多層構造体作製の可能性を示している。ゲルは内部連結した多孔構造を保持する高規則的なハニカム構造を有することを明らかにしている。このハニカム構造は、基板固定化の有無により(1)円形状を保持したまま単純に孔径変化させる場合と(2)相転移温度以下で規則的な座屈構造を発生させる場合との2通りの変形過程を経ることを見いだしている。有限要素法解析など材料力学的研究事例からこのような複屈折形状が圧縮により引き起こされることを確認し、本研究にみられた座屈現象に関しても同様の発生メカニズムが働いているものと推測している。多様な表面形状変形プロセスを選択できる足場材料を提案している。

第四章では、異なる表面形状を有する温度応答性ゲルシートを用いた細胞培養について述べた。温度応答性のN-isopropylacrylamide (NIPAAm)ゲルの他、側鎖末端にリン酸基を持つmethacryloyloxyethyl phosphate (MOEP)やアミン基を有するN-(3-aminopropyl) methacrylamide hydrochloride (NAPMAm)とNIPAAmの共重合ゲルを用いている。重合溶媒組成を調製することより、接着表面積の大きい繊維状微細構造を有するゲルが作製可能であることを示している。平膜およびハニカム孔径の異なるゲルシートを足場とし、骨芽細胞前駆細胞株MC3T3-E1 (MC3T3)を培養した結果、いずれの場合も細胞が接着するがハニカム孔径やゲル組成により異なる接着形態を示すことを明らかにしている。Poly(NIPAAm-co-NAPMAm)ゲルを用いてMC3T3を14日間培養した結果、平膜やハニカム構造で異なる増殖応答を示すと同時に、分化指標であるALP活性にも差があることを見いだしている。

第五章は総括であり、本論文全体の内容をまとめるとともに、細胞足場としての刺激応答性表面形状の可能性について述べている。

以上のように、本学位請求論文においては、10 $\mu$ m程度の微粒子からなるコロイド結晶の作製やマイクロパターン化を実現し、それらを鋳型として用いることにより高秩序ハニカム構造を有する温度応答性ゲルの合成およびマイクロパターン化の可能性を見いだしている。刺激応答性ゲルのハニカム構造が示す興味深い変形プロセスを見いだした一方で、これら温度応答性ゲルで作製されたハニカム形状が細胞機能発現に影響を及ぼしうることを確認している。今後、温度変化によるゲル表面上での細胞機能変化の評価や、微細構造が接着形態や機能にどのように作用するかなどへの展開により、スマートソフトマテリアルによる新しい細胞足場の提案につながるものと考えられ、マテリアル工学に対する貢献は大きい。よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。