

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2019～2023

課題番号：19KK0357

研究課題名（和文）ナノ構造スキャフォールドとラマン計測による幹細胞のメカノトランスダクション解明

研究課題名（英文）Revealing mechanotransduction of stem cells by nanostructured scaffolds and Raman spectroscopy

研究代表者

藪 浩（Yabu, Hiroshi）

東北大学・材料科学高等研究所・教授

研究者番号：40396255

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,400,000円

渡航期間： 1ヶ月

研究成果の概要（和文）：渡航先であるBordeaux UniversityのProf. Reiko Odaの研究室に訪問し、八ニカムスキャフォールドとキラルナノ材料を複合化した新たな光学活性な発光材料の開発について協議し、今後発展させることについて合意した。また、電場増強による表面増強ラマン散乱能を有する金ナノ粒子コンポジット微粒子について、キラル光であるベクトルビーム分光によりメタ材料としての機能を有することが明らかとなり、さらにそのプラズモン共鳴による光吸収により、高密度の微粒子を作成することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己組織化により作製される八ニカムスキャフォールドによる細胞の接着・増殖・分化制御は再生医療における重要な課題であり、本研究を通して八ニカムスキャフォールドの構造・物性と細胞に与える影響について基礎的な知見を得た。また、金ナノ粒子を高分子微粒子表面に高密度に配列したナノコンポジット微粒子について、イムノアッセイのプロープとしての物性を確認した。これらの成果は医療に適用出来る工学技術の基礎的な知見を確立するという意味で非常に重要であり、医療技術における社会要請に応えるものである。また、本研究過程で渡航先であるProf. Odaを東北大学のPIとして招聘できたことは国際共同研究の大きな成果と言える。

研究成果の概要（英文）：During my visit to Professor Reiko Oda's laboratory at Bordeaux University, we discussed and agreed to collaborate on the development of novel optically active luminescent materials by combining honeycomb scaffolds with chiral nanomaterials. Additionally, we investigated gold nanoparticle composite microparticles with enhanced Raman scattering capabilities due to electric field enhancement. Using vector beam spectroscopy, we demonstrated that these microparticles function as metamaterials with high optical density due to plasmon resonance absorption.

研究分野：材料科学

キーワード：八ニカムスキャフォールド ナノ粒子 メカノトランスダクション センサー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

再生医療研究において、ヒト間葉系幹細胞 (hMSC) や iPS 細胞などの幹細胞を望みの系譜に分化させる技術は必要不可欠である。現在、様々な培養方法によって幹細胞の増殖・分化を制御する研究が行われているが、分化効率や成功率の低い細胞が多いことが大きな課題である。細胞の増殖・分化を制御する因子には、液性因子と足場素材が挙げられ、培地については様々な生体由来成分が検証されている一方、スキャフォールドはポリスチレンに代表される硬い人工材料がほとんどであった。

近年、メカノバイオロジー研究の発展により、足場素材の物理的・構造的特性によっても培養細胞の機能が飛躍的に変化することが知られつつある。培養基材の弾性率やナノスケールから細胞スケール (ミクロンスケール) における表面構造が幹細胞の接着・増殖・分化などの挙動に大きな影響を与えていることが報告されており、細胞内での分子レベルでの作用機序の解明が急務となっている。低弾性領域ではハイドロゲルの弾性率や表面パターンングを組み合わせた研究がすでに報告されている。一方、無機物や硬質ポリマーであるポリメチルメタクリレート (PMMA) などを用いた表面パターンングについても検討がなされている。しかしながら弾性率が数 MPa ~ 数 GPa でセルラー (細胞と同等) サイズ ~ サブセルラーサイズにおける研究はこの研究領域のミッシングリンクとなっている。生体内では関節部位などの高圧力の部位や、腱や消化管などの硬質な力学特性を示す部位があり、生体に近い培養環境を与えられるような培養基材で、精度高い均質性を持ちながら大量調整能を持った素材はこれまで存在しておらず、新しいスキャフォールドおよびそれらを分析する技術が求められてきていた。

さらに研究代表者らは、磁性ナノ粒子を導入した近赤外励起表面増強ラマン散乱 (SERS) 粒子により、特定の部位において生体を透過する近赤外光でラマン散乱分光が可能であることを見出し、報告している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、微粒子の特定の表面に抗体を化学修飾した近赤外励起磁性 SERS 粒子を用いてナノスケールの微細構造が幹細胞分化に影響を与える作用機序の解明に資する基礎技術を開発することである。Bordeaux University の Oda らは微細加工では制御が難しい数十ナノメートルスケールの分子集合体をテンプレートとしたラセン状ナノシリカ複合体を足場として用いることにより、そのラセンピッチが幹細胞の分化に影響することを報告している。本知見と藪が持つ近赤外励起 SERS センサー粒子を組み合わせることで、細胞-材料表面関連の研究におけるミッシングリンクを統合的に解明できる。

3. 研究の方法

以下の2つの研究を系統的に進めた。

1) ハニカムスキャフォールド上での細胞の分化動態解析

ハニカム上スキャフォールド上での幹細胞の分化動態について形態学的・生化学的なデータを集積し、時系列画像を基にした幹細胞の時系列形態学的データを基に多変量解析法などを用いてその相関を共同研究者と共に進めた。

2) センサー粒子表面への抗体の結合

センサー粒子特定部位への抗体の結合を行った。クリック官能基を含む合成手法と微粒子化技術、および微粒子表面でのクリック反応など高分子合成および表面修飾技術を用いて、近赤外励起 SERS 微粒子の作製法と組み合わせることにより、様々なマーカーに結合する抗体を固定化したセンサー粒子の作製を行う。作製したセンサー粒子を用いることにより、単純な部位特異的 SERS 指紋スペクトルだけでなく、特定のマーカー分子の細胞内動態を明らかにすることが可能となると期待される。

4. 研究成果

培養基材の弾性率やナノからミクロンスケールの表面構造が幹細胞の接着・増殖・分化に与える影響とその機序を分子レベルで解明することは、再生医療や組織工学の分野において非常に重要な課題である。近年、メカノバイオロジー研究の発展により、足場素材の物理的・構造的特性によっても培養細胞の機能性が飛躍的に変化することが知られるようになっている。培養基材の弾性率やナノスケールから細胞スケール(ミクロンスケール)における表面構造が幹細胞の接着・増殖・分化などの挙動に大きな影響を与えていることが報告されており、細胞内での分子レベルでの作用機序の解明が急務となっている。しかしながら、弾性率が数 MPa から数 GPa でセルラー(細胞と同等)サイズからサブセルラーサイズにおける研究は、この研究領域のミッシングリングとなっている。

本研究期間では、新型コロナウイルス感染の広がりのため、フランスへの渡航が困難であったことから、国内においてサンプルの検討と WEB 会議システム等を活用したディスカッションを通して研究を進めた。また、コロナ禍が収束の兆しを見せ始めてからは、Prof. Oda が東北大学の PI として赴任したため、国内におけるディスカッションが可能となり、一部現地のメンバーとのディスカッションが必要な場合にのみ短期間の渡航にとどめた。

具体的な研究成果としては、以下の内容が挙げられる。

1) シリカコートハニカスキャフォールドの作製

ハニカム多孔質膜上にテトラエトキシシラン(TEOS)をコートした後、UV-オゾン処理によりその表面をシリカ化すること、さらに Mg 蒸気でシリサイド化することに成功し、ラセン状シリカナノ構造体のリファレンスとなるシリカからなる多孔膜の作製を完了した。さらに、マスクを介した UV-オゾン処理を行うことで、シリカコート部位を選択的にパターンニングできる技術の開発に成功した(図1)。また、中心部にあるポリマー部を溶出することで、シリカの外骨格のみが残った

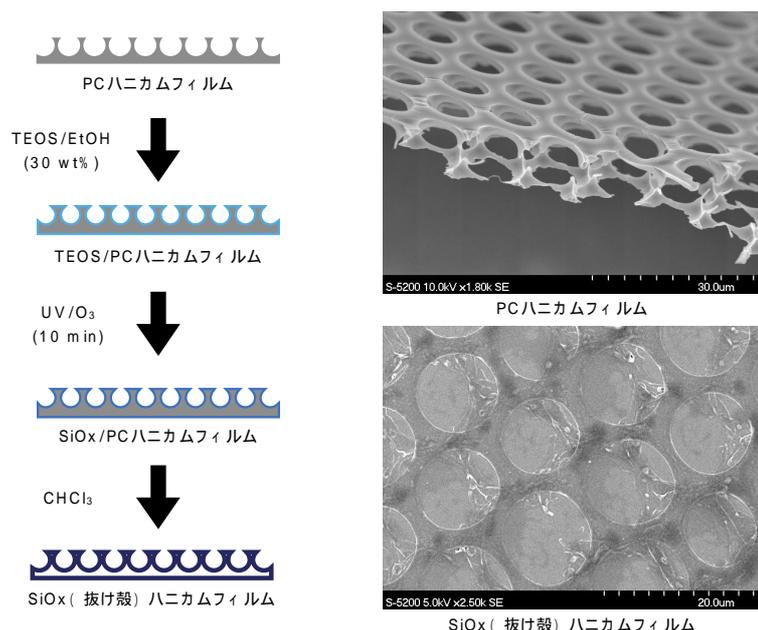


図1.シリカコートハニカムスキャフォールドと「抜け殻」ハニカム (Langmuir, (2020))

「抜け殻」ハニカムフィルの作製にも成功し、論文として報告した。

2) ハニカムスキャフォールドを用いた油水分離膜への展開

ハニカム膜の多孔構造の孔径がサブセルラーサイズからオーバーセルラーサイズであり、細胞のスキャフォールドへの展開を考えた場合、孔径と濡れ性の制御は非常に重要なパラメータとなり得る。そこで、貫通型のハニカム多孔質膜を作製し、表面から剥離したのち、ポリエチレンテレフタレート製のメッシュ上に固定化し、UV-オゾン処理により表面を酸化することで濡れ性の制御を試みた。表面張力の低い油は基本的にUV-オゾン処理により程度の差はあるがハニカム膜内に濡れ広がるのに対し、水はUV-オゾン処理なしや短い時間の処理では高い撥水性(水滴接触角 100 度以上)を示した。一方、UV-オゾン処理時間を 30 分以上にすると、水滴の接触角はほぼ 0 度になり、濡れ広がることが明らかとなった。その結果、ハニカム膜を最初に濡らす液体の物性により、水と油を分離する膜となることが明らかとなった。この特性は細胞のスキャフォールドにおいても、特定のサイズ・接着性の細胞を培養・分離する技術に展開できると期待される。

膜の上下に空孔が貫通したハニカム多孔膜の作製に成功し、PET メッシュで強化することで多様な液体を分離できる分離膜の作製にも成功し、論文として報告した。その濡れ性をUV-オゾン処理により制御する事で、水と油を比重と濡れ性の違いに依って分離できる油水分離膜へと応用できることを明らかとした(図 2)。この油水分離膜は、ハニカム多孔膜が孔同士が膜内で連通しているという特徴を活かし、非常に薄いにも関わらず、膜中に水または油のどちらかの濡れやすい液体を担持することができ、それによって分離可能な液体を選別することができる。また、孔径が数ミクロンから 10 ミクロン程度であるため、孔径以上のサイズの油滴や液滴も効率的に分離できる可能性がある。このような油水分離膜は油によって汚染された水を浄化できるだけでなく、脂溶性・水溶性の様々な有効成分を抽出する際にエマルジョン液滴を分離するためのフィルターとしても応用可能であった。



図 2 . ハニカムスキャフォールドを用いた油水分離膜 (*Adv. Mater. Interf.* (2022))

3) SERS センサー粒子のイムノアッセイプローブへの展開

電場増強による表面増強ラマン散乱能を有する金ナノ粒子コンポジット微粒子について、キラル光であるベクトルビーム分光によりメタマテリアルとしての機能を有することが明らかとなり、さらにそのプラズモン共鳴による光吸収により、光学密度の高い微粒子を作成することが可能となった。また、以前の研究でアミノ基を有する高分子微粒子の表面には、タンパク質などを

縮合することが可能であることを見出している。この手法を用いることで、金ナノ粒子コンポジット微粒子の表面にインフルエンザ抗原に対する抗体を固定化し、ウェル上に固定化した抗体とサンドイッチすることにより、サンドイッチアッセイが可能であることを示した(図3)。この成果は、従来の単一の金ナノ粒子を用いる場合よりも高感度でアッセイを行える可能性を示すものであり、論文として報告した。

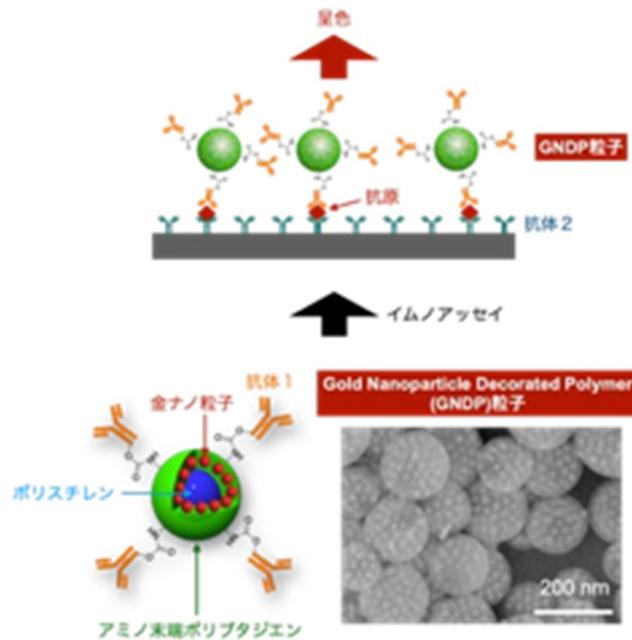


図3 . 金ナノ粒子-ポリマーコンポジット (GNDP) 粒子と抗体の結合およびイムノアッセイプロセスへの展開 (Langmuir (2024)).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Chen Bihai, Wada Takehiko, Yabu Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Amphiphilic Perforated Honeycomb Films for Gravimetric Liquid Separation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Materials Interfaces	6. 最初と最後の頁 2101954 ~ 2101954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/admi.202101954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Grewal Manjit Singh, Kisu Kazuaki, Orimo Shin-ichi, Yabu Hiroshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Increasing the ionic conductivity and lithium-ion transport of photo-cross-linked polymer with hexagonal arranged porous film hybrids	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104910 ~ 104910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Falak Shahkar, Shin Bo Kyoung, Yabu Hiroshi, Huh Do Sung	4. 巻 244
2. 論文標題 Fabrication and characterization of pore-selective silver-functionalized honeycomb-patterned porous film and its application for antibacterial activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Polymer	6. 最初と最後の頁 124646 ~ 124646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polymer.2022.124646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Yabu Hiroshi, Ishibashi Kosuke, Grewal Manjit Singh, Matsuo Yasutaka, Shoji Naoki, Ito Koju	4. 巻 23
2. 論文標題 Bifunctional rare metal-free electrocatalysts synthesized entirely from biomass resources	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science and Technology of Advanced Materials	6. 最初と最後の頁 31 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14686996.2021.2020597	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yabu Hiroshi, Nakamura Koki, Matsuo Yasutaka, Umejima Yutaro, Matsuyama Haruyuki, Nakamura Jun, Ito Koju	4. 巻 4
2. 論文標題 Pyrolysis-Free Oxygen Reduction Reaction (ORR) Electrocatalysts Composed of Unimolecular Layer Metal Azaphthalocyanines Adsorbed onto Carbon Materials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Energy Materials	6. 最初と最後の頁 14380 ~ 14389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsaem.1c03054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chen Bihai, Wada Takehiko, Yabu Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Amphiphilic Perforated Honeycomb Films for Gravimetric Liquid Separation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced Materials Interfaces	6. 最初と最後の頁 2101954 ~ 2101954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/admi.202101954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Grewal Manjit Singh, Matsuo Yasutaka, Yabu Hiroshi	4. 巻 45
2. 論文標題 Heteroatom-doped carbon electrocatalysts prepared from marine biomass cellulose nanocrystals and bio-inspired polydopamine for the oxygen reduction reaction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Journal of Chemistry	6. 最初と最後の頁 19228 ~ 19234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1NJ04368D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cao Thuy T., Yabu Hiroshi, Huh Do S.	4. 巻 233
2. 論文標題 Flower-like ordered porous array by combination of breath figure and layer-by-layer technique	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polymer	6. 最初と最後の頁 124206 ~ 124206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polymer.2021.124206	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Oku Keisuke, Ohno Kyohei, Miyamoto Daisuke, Ito Koju, Yabu Hiroshi, Nakazawa Kohji	4. 巻 21
2. 論文標題 Effect of Pore Size of Honeycomb Patterned Polymer Film on Spontaneous Formation of 2D Micronetworks by Coculture of Human Umbilical Vein Endothelial Cells and Mesenchymal Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Macromolecular Bioscience	6. 最初と最後の頁 2100113 ~ 2100113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mabi.202100113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 B. Chen, T. Wada, H. Yabu	4. 巻 36(23)
2. 論文標題 Underwater Bubble and Oil Repellency of Biomimetic Pincushion and Plastron-Like Honeycomb Films	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 6365-6369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c00427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Yabu, J. Matsui, Y. Matsuo	4. 巻 36(40)
2. 論文標題 Site-Selective Wettability Control of Honeycomb Films by UV-03 Assisted Sol-Gel Coating	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 12023-12029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c02401	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Yabu, Y. Matsuo, T. Yamada, H. Maeda, J. Matsui	4. 巻 32(23)
2. 論文標題 Highly Porous Magnesium Silicide Honeycombs Prepared by Magnesium Vapor Annealing of Silica-Coated Polymer Honeycomb Films toward Ultralightweight Thermoelectric Materials	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry of Materials	6. 最初と最後の頁 10176-10183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemmater.0c03696	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yabu Hiroshi, Yokokura Seiji, Shimizu Seiichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Gold Nanoparticle-Decorated Polymer Particles for High-Optical-Density Immunoassay Probes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 3268 ~ 3273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.3c03890	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S Grewal Manjit, Ishibashi Kosuke, Hara Mitsuo, Ishizaki Yuya, Nagano Shusaku, Yabu Hiroshi	4. 巻 39
2. 論文標題 Effect of the Poly(ethylene glycol) Diacrylate (PEGDA) Molecular Weight on Ionic Conductivities in Solvent-Free Photo-Cross-Linked Solid Polymer Electrolytes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 10209 ~ 10215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.3c01146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 陳碧海, 和田建彦, 藪浩
2. 発表標題 自己組織化による高分子パターンニングと撥水・撥液表面への展開
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藪浩
2. 発表標題 ヤヌス粒子を用いたイムノアッセイシステム
3. 学会等名 第29回マイクロシステム融合研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藪浩
2. 発表標題 自己組織化ハニカムフィルムを用いた撥液表面の創製と液滴操作・分離膜への展開
3. 学会等名 第4回材料技術研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroshi Yabu
2. 発表標題 Self-assembled polymer nano-structures in 3D confined spaces
3. 学会等名 Soft Interface Seminar（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藪浩
2. 発表標題 自己組織化ハニカムフィルムを活用した油水分離膜の創製
3. 学会等名 「生命の奇跡のプロセスに学ぶイノベーション」シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 金属間化合物からなる多孔質フィルム、並びにその製造方法及び応用	発明者 山田高広, 藪浩, 松井淳	権利者 国立大学法人東北大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-145374号	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

藪研究室ホームページ
http://yabulab.wp.xdomain.jp

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
	オダ レイコ (Oda Reiko)	ボルドー大学・IECB・Director	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------