

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成 28 年 12 月 5 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 工学研究科

職名・学年 助教

氏名 辻 博 司

助成の種類	平成 28 年度 ・ 国際研究集会発表助成		
研究集会名	2016年米国材料研究学会秋季大会・イオンシンポジウム2016 Materials Research Society Fall Meetings & Exhibit Symposium PM1- Ion Beam-Enabled Nanoscale Fabrication and Advanced Materials Synthesis		
発表形式	<input checked="" type="checkbox"/> 招待 ・ <input type="checkbox"/> 口頭 ・ <input type="checkbox"/> ポスター ・ <input type="checkbox"/> その他()		
発表題目	Negative-Ion Beam Modification of Polymer Surfaces for Cell Patterning of Adult Stem Cells		
開催場所	Hynes Convention Center, Level 1, Room 107, Boston, MA, USA		
渡航期間	平成28年11月25日 ~ 平成28年12月3日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> 有(PM1プログラム)		
会計報告	交付を受けた助成金額	300,000 円	
	使用した助成金額	300,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	航空券	185,800 円
		宿泊費	112,700 円
		日当	43,800 円
		参加登録費	73,530 円
(合計)		415,830 円	
	上記金額の一部として助成金300,000 円を使用		
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この度は、貴財団からの助成を頂戴することができ、大変感謝しております。御礼申し上げます。		

1. シンポジウムの概要

米国材料研究学会秋季大会（ハインズコンベンションセンター及びシエラトンホテル、バックベイ、ボストン、米国、2016年11月27日～12月2日）における国際シンポジウムPM1「イオンビームが実現する加工技術と先端的材料合成」からの講演依頼を受けて、PM1.1「生物学・生物分子科学」セッションで「成体幹細胞の細胞パターンニングの為の負イオンビームによる高分子材料の表面改質」という題目の招待講演を11月28日に行った。

本シンポジウムPM1は、イオンやイオンビームを用いてナノ構造やナノパターン形成加工を材料に施して、従来にない先端的材料を合成することを目指したものであり、世界各国から最新の研究成果を集めて、物理・工学から生物・医学まで学際的な研究者らによる議論の場を提供している。そして、近年、イオンビーム注入により、高分子材料表面にナノメートルからマイクロメートルのパターンを持つ特殊な加工を利用して、医学や生物分野への利用を目指す機運が大きくなってきていた。他方、小職は京都大学で負イオン注入装置を用いた高分子材料表面のパターン化負イオンビーム処理と表面の物理的性質や生物学的特性について研究を行ってきた。ポリスチレンやシリコンなど疎水性材料表面に炭素や銀負イオンビームを注入する事により、高分子材料表面をマイクロパターンに従った模様で改質した。そして、この基材上で細胞培養を行うと、培養中に細胞が処理パターン上に接着して、自己配列を形成する。つまり、個々の細胞を操作するのではなく、細胞が自主的に配列するという自己組織化による配列操作が可能となった。他方、欠損神経の再生への応用についても本学医学研究科と共同研究を行い、イオン注入材料の効果性や安全性を試して来たので、今回、その成果発表の場を得た。

シンポジウムPM1では別紙のプログラムに示す様に、8つのセッションがあり、発表件数は総数で62件、内訳としては招待講演が19件、口頭発表が27件そしてポスター発表が16件であった。参加者はセッションによって入れ替わりが多いが、1セッション当たり概ね45名程度であった。従って、総人数は360人・セッションであり、多くの有益な発表を聞けると共に参加者らと情報の交換や議論ができ、大いに有益であった。

2. 発表内容の概要

具体的な注入処理条件は、炭素負イオンビームをポリスチレンPSやシリコンラバーSRに注入エネルギー10 keV (5–20 keV)、注入量 3×10^{15} ions/cm² (1×10^{14} – 1×10^{16} ions/cm²) である。また、パターン化処理としては、50 μ m幅の開口列を有するCu-Ni薄板をパターンマスクとして用いて、高分子表面に微細なパターンで注入処理を行った。イオン注入で改質した表面の特性では、注入イオン種に依らない**①照射効果**として表面の親水化、官能基の導入およびタンパク質の吸着を示した。水の接触角は炭素照射前後で、PSでは90°から65°に、SRでは100°から50°まで低下し、疎水性表面が大きく親水化した。この親水化は、XPS分析から注入欠陥に酸素原子が取り込まれて、高分子表面にヒドロキシル基C-OHやカルボキシル基C=O、カルボニール基O=C-OHなど有極性官能基の形成に起因することが判る。また、注入処理SRシートを有血清培地に2時間浸漬した後にXPS分析でN1sのマッピングを調べると、タ

ンパク質が注入処理パターンに従って、表面に吸着しており、基底膜の形成を示した。また、**②ドーピング効果**は注入イオン種に依存していた。炭素、銅、銀負イオンを注入したポリスチレン PS 上で、ラット副腎髄質褐色種細胞 PC12h を培養して、炭素や銀注入試料上では正常な細胞培養が得られたが、銅注入試料では細胞のアトロフィー（細胞萎縮）が認められた。今後、更なる研究により、薬効果があるイオン種の発見が期待される。

③パターンニング効果は細胞接着の特殊性を与える効果であり、極めて細い線幅での注入処理によって特殊効果が得られた。つまり、楔形の微細パターンで炭素負イオン注入した SR シート上で、ラット骨髄由来の間葉系幹細胞 MSC を培養して、細胞はイオン照射処理上に細長く伸展した形状で粘着したものとなり、注入パターンに従った幹細胞の接着パターンが形成された。これは、親水化した表面上に培地の血清成分である糖類やフィブリン、コラーゲンや細胞接着タンパク質が接着し、これに細胞が粘着して、イオン注入処理パターンに従った細胞接着が得られた。細胞接着に必要なパターン幅を細胞核の位置で評価すると細胞接着には核と同程度の大きさ（3 μm ）以上の場所が必要である。更に 10 μm 幅のライン上では、核の長軸方向が注入ラインの方向にほぼ一致するという細胞核の配向性が得られた。

④神経再生への応用では、炭素負イオン注入シリコンラバーSR チューブ（内径 2 mm、外径 3 mm、長さ 18 mm）用いたラット座骨神経の再生では、座骨神経系の欠如長が 15 mm の場合、術後 12 週と 24 週後には神経組織の再生が認められ、24 週後にはペダル内転筋の活動電位が発現し、欠損神経が組織と機能の両面が回復した。これより、炭素負イオン注入シリコンラバーSR チューブの応用性の効果、体内留置に於ける安全性、神経細胞との良好な親和性が示された。

更に、**⑤パターン化接着した成体幹細胞の分化能**では、シリコンラバーSR シートに微細パターン接着したラット由来の間葉系幹細胞 MSC を形成し、次いで、接着した細胞をメルカプトエタノール法により神経細胞への分化誘導を試みた結果、分化後の細胞形態は丸い細胞体と細長いフィラメント様とニューロンの様な形態に変化した。また、分化後も初期のパターン配列を保持していた。次いで、蛍光抗体法により神経特異酵素 NSE の検査では、MSC 分化後の細胞体やフィラメント状の突起部ともに NSE の発現があり、間葉系幹細胞 MSC は、神経細胞に分化したと言える。以上から、記憶や意思決定に関わる神経活動を調べる為、任意パターンでの人為的な神経細胞回路網の形成が期待できる。

(以上)