

SLS Fabrication of Scaffold for Regeneration of Highly Metabolic Organs

新野 俊樹, 酒井 康行, 黄 紅雲, 大泉 俊輔・東京大学生産技術研究所

Toshiaki NIINO, Yasuyuki SAKAI, Hongyu HUANG, Shunsuke Oizumi, Institute of Industrial Science, The University of Tokyo

成毛 宏道・松下電器産業

Hiromichi NARUKE, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd

(論文要旨)

患者自らの細胞を培養することによって組織を再生する組織再生工学は、皮膚などの代謝速度が非常に遅くかつ要求される機能が限られている組織において既に実用段階にあるが、内臓組織を始めとする他のほとんどの組織において、実用化への道のりはまだまだ遠いと言われている。本論文は内臓組織のひとつである肝組織の再生を目指とした担体の造形に関するものである。肝組織再生用の担体においては、90%以上の高い空孔率と、各細胞に酸素と栄養を供給するための微細流路ネットワークの構成が不可欠である。本論文では、粉末焼結積層造形法の材料として、生体吸収性のポリカプロラクトンと食塩の混合粉末を用い、内部に直径1mmの微細流路網を有し、なおかつ空孔率が90%の試作担体の造形が報告されている。

1. 緒言

筆者らは、ヒト臨床用埋め込み型再構築肝組織の作製を目指し、肝細胞の灌流培養用担体を開発している。肝機能発現の段階まで肝細胞を再構築するためには、細胞に形状を付与する多孔性の培養担体(Scaffold)が必要である。担体には、生体吸収性材料からなる高空孔率な多孔質体であること、培養液や老廃物等の代謝活動を促す3次元流路網を有すること、が要求される。これまでに多数の担体が作られているが[1]、いずれも皮膚、骨、軟骨といった血流を重視しない組織の再構築への適用に止まっており、担体内に積極的に血流用の流路を組み込む研究は酒井ら[2]やLangerら[3]による一部の研究に限定される。

本研究では、生体吸収性樹脂と水溶性フィラの混合粉体を用いて粉末焼結積層造形法(Selective Laser Sintering, 以下SLS)を行い、内部に流路網(Fig.1)を有する高空孔率な多孔質体を試作する。また、X線CTにて内部流路を観察する。

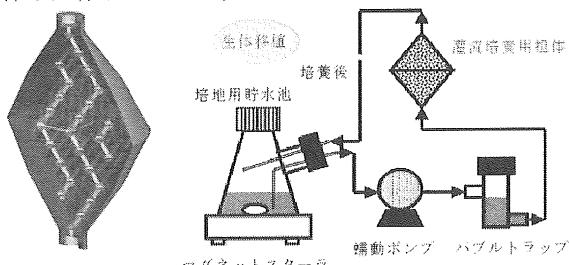
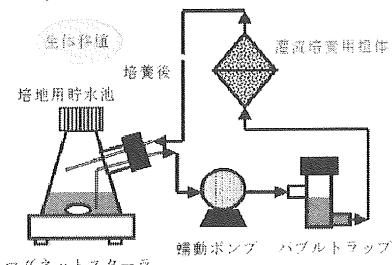
Fig.1 流路モデル
(断面図)

Fig.2 肝組織再生の概念図

2. SLS 造形法を用いた多孔質体作製方法

主な積層造形法のうち、光造形法は精度が良く微細加工に適しているが、材料が光硬化樹脂に限定されるため材料開発に困難が伴う。一方、SLS法は粉体化が可能な殆どの熱可塑性材料の造形が可能であるが、加工精度が光造形に及ばず、また造形物が原理上多孔質なものになる欠点がある。組織再生用担体においては多孔性が必要とされるため、SLSの欠点が逆に利点となると考えられるが、必要な空孔率は90%程度と非常に高く[1]、通常のSLS造形で得られるよりもさらに

高い空孔率が必要とされる。空孔率は焼結時のレーザエネルギー供給量を小さくすることで、ある程度高めることができるが、前述の空孔率はそれでもなお得られない値であるうえ、造形物の強度が低下してブレーク作業が行えないという問題もある。そこで本研究では樹脂と水溶性フィラの混合粉体をSLS造形し、造形・ブレーク作業後にフィラを溶出することとした。このことで造形物を高空孔化でき、また、フィラにより焼結の際の反りが低減され比較的高いレーザ強度による造形が可能になり、フィラ溶出と同時に未焼結樹脂が良好に排出されることも期待できる。

3. 実験

3-1 材料

生体吸収性樹脂にポリカプロラクトン(以下PCL、プラクセルH5ダイセル化学工業製)を用い、これを平均粒径50μmの球体に加工した。フィラには食塩((株)鳴門塩業製)を試験用ふるいにて100~150μmに分級して用いた。PCLと食塩は重量比1:4で混合した。

3-2 装置及び造形条件

Fig.3は多孔質体作製方法の概要である。造形にはCO₂レーザを搭載したSLS造形装置(レーザ焦点φ500μm、分解能0.8μm、出力30W)を用いた。装置のパラメタは主にレーザ強度、レーザ走査速度、レーザ走査間隔、積層厚さ、装置内雰囲気

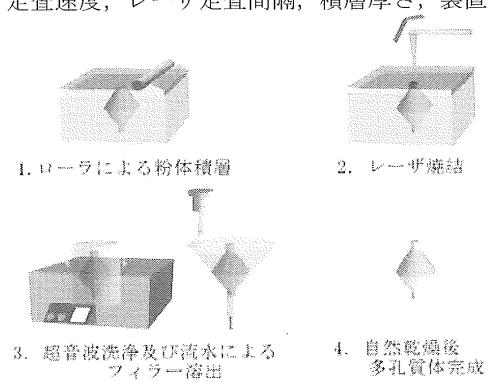


Fig.3 多孔質体作製方法概要

囲気温度からなる。K.H.Tan らの実験[4]を参考にレーザ走査速度と雰囲気温度はそれぞれ 3433mm/s, 50°Cで固定した。予備実験でレーザ強度 7.8W・走査間隔 0.10mm にて径約 0.5mm 長さ約 3mm の縦穴流路を有する多孔質体を作製できたためこのパラメタで造形を行った。水によって焼結体中の塩を簡単に溶出し、約 2 時間流水に晒し内部まで水を浸透させる。次に超音波洗浄を 10 分行い約 10 時間流水に晒し未焼結粉体及び塩を排出・溶出する。溶出後自然乾燥し多孔質体を得る。

4. 結果と考察

Fig.3 は多孔質体の写真画像で、高さ 46mm・最大胴部 ϕ 30mm・見かけ体積 13cm³・重さ 1.7 g・空孔率 89%である。作製後、造影剤(オムニパーク 300 : 第一製薬)を用い X 線 CT (SMX-225CT : 島津製作所)による測定を行った。Fig.4, Fig.5 は、それぞれ試作担体の X 線透過像および CT 画像である。Fig.5(a)～(d)に最大胴部を $z=0$ としたときの、それぞれ

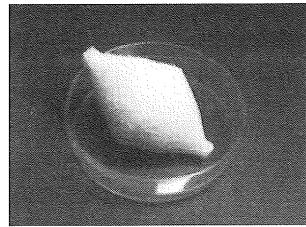


Fig.3 PCL 多孔質体

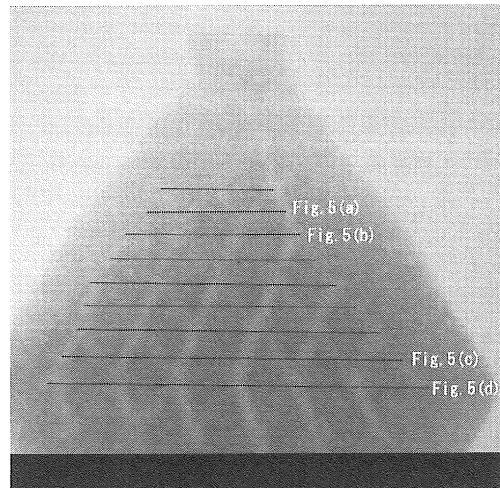


Fig.4 X 線画像

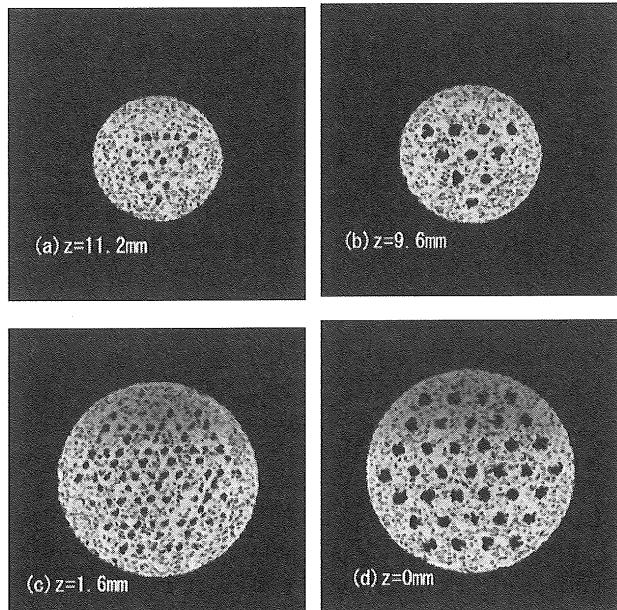


Fig.5 X 線 CT 画像

$z = 11.2, 9.6, 1.6, 0.0[\text{mm}]$ の位置の断面再構築画像を示す。各断面において、黒く表示されている部分が造影剤の無い部分、即ち流路に相当する部分である。Fig.5(a) Fig.5(c)は流路、Fig.5(b) Fig.5(d)は流路の分岐合流点で径はそれぞれ 0.9mm, 1.7mm であった。

今回、通常の粉末焼結積層造形と最も異なる点は、材料粉末に水溶性フィラを混合し、造形、ブレーク後に溶出した点にある。粉末をローラ等で敷き詰めたときの空孔率は 70%以下である。一般的にレーザ焼結を行えば空孔率がさらに低下することは容易に想像でき、今回 90%近い空孔率が得られたことは、水溶性フィラを用いた成果であると言える。また、一般的なブレーク作業に於いて 1mm 程度の穴から未焼結粉体を除去することは、穴が真直であれば可能であるが、今回の例のように複雑に入り組んだ穴では実質的に不可能である。このような穴から良好な未焼結粉末の除去が行えたことも、水溶性フィラを用いた成果である。

また、水溶性フィラの残留濃度を評価したところ、200cm³ の純水に浸漬、2 時間ごとに水溶性フィラである食塩の濃度を測定、浸漬する純水を交換したところ、2 回目の交換時にすでに生理的食塩水の濃度の 1%以下となることが確認され、水溶性フィラを用いたことの、その後の影響は少ないことが確認された (Tbl. 1)。

Tbl.1 担体の純水への浸漬時間と食塩濃度

浸漬時間 [hour]	2	4	6	8
塩分濃度 [mol/l]	5.50×10^{-4}	5.22×10^{-4}	1.12×10^{-4}	5.14×10^{-5}

5. 結言

ポリカプロラクトン粉末と食塩粉末を混合し、粉末焼結積層造形を行うことで、空孔率 89%の試作担体を得ることに成功した。内部に構成された直径 1mm の流路網からは未焼結粉末が良好に排出され、流路のつまりなどは観察されなかつた。また、担体を浸漬した純水の食塩濃度から、残留食塩は十分少なくなることが確認された。

<参考文献>

- 1) Wai-Yee Yeong, et al; Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential ; TRENDS in Biotechnology Vol.22No.12 December2004
- 2) Y. Sakai, et al; A novel poly-L-lactic acid scaffold that possesses a macroporous structure and a branching/joining three-dimensional flow channel network: its fabrication and application to perfusion culture of human hepatoma Hep G2 cells ; Materials Science and Engineering C 24 (2004) 379–386
- 3) Langer, R.; A simple soft lithographic route to fabrication of poly(ethylene glycol) microstructures for protein and cell patterning ; Biomaterials; 25: 557-563, 2004
- 4) K.H.Tan, et al; Selective laser sintering of biocompatible polymers for applications in tissue engineering ; Bio-Medical Materials and Engineering 15 (2005)113-124