マイクロ光造形モールドイングによる3次元多孔質スキャフォールドの作製

Fabrication of three-dimensional porous scaffolds using a ceramics molding process based on microstereolithography

○学 鳥居 嵩 (横国大) 正 丸尾 昭二 (横国大)

Takashi Torii, Yokohama National University, Maruo Lab., 79-5 Tokiwadai, Hodogaya, Yokohama, Kanagawa
Shoji Maruo, Yokohama National University, Maruo Lab., 79-5 Tokiwadai, Hodogaya, Yokohama, Kanagawa

We report on a three-dimensional (3D) molding technique of fabricating bioceramic scaffolds. In this method, ceramic slurry is cast into a 3D polymer master mold, which is fabricated via microstereolithography, by a centrifugal casting method. The polymer master mold is thermally decomposed, so that a complex 3D bioceramic scaffold can be produced. In experiments, the decomposition process of the polymer model was optimized by the master decomposition curve theory to reduce harmful cracks in a green body. As a result, we could produce not only precise lattice models but also sophisticated porous scaffolds using beta-tricalcium phosphate (β -TCP) slurry. This bioceramic 3D molding technique based on microstereolithography will be useful for tailor-made tissue engineering and regeneration medicine.

Key Words: Scaffold, β -TCP, centrifugal casting, microstereolithography

1. 諸論

近年、再生医療が新しい治療方法の一つとして多くの注目を集めている。その治療方法とは、細胞を増殖させることで組織を再生するものである。細胞増殖には、細胞のすみかとなるマイクロ構造体（スキャフォールド）が重要な役割を担っている。なぜなら、スキャフォールドに設けた細孔の大きさ・配列・相互連結などの諸条件により、細胞増殖に差異があるからである[1]。この差異は、細孔がスキャフォールドへの細胞の侵入しやすさ・組織再生のスペース・栄養分循環流路の役割を果たしていることに起因する。このため、細孔はスキャフォールドに必要な不可欠な要素であり、スキャフォールド作製技術には細孔を自在に制御することが求められている。この課題の解決法の一つとして、CADを用いたラピッドプロトタイピング(RP)技術を利用して細孔を自在形成する研究が多く報告されている[2, 3]。しかし、これまでの研究で報告されている細孔の最適条件は定まっていない。この原因の一つとして、作製技術の加工分解能や再現性が不足していることが挙げられる。そこで、本研究ではマイクロ光造形を用いて、スキャフォールドを高分解能かつ高精度に作製し、細孔の最適条件の究明に結びつける。

2. 研究方法

本研究で用いるセラミックスモールドイング技術の流れを図1に示す。まず、マイクロ光造形を用いて、所望の形状を反転した3次元鋳型を作製する。この鋳型にスラリーと呼ばれる泥状のセラミックス材料を遠心処理で充填する。次に、充填したスラリーを乾燥させて、固化させる。そして、鋳型として用いた造形物だけを熱分解する（脱脂）。この脱脂工

程により、鋳型の形状を反転したセラミックス転写体を形成する。最後に、セラミックス転写体を焼き固めることにより、セラミックスの焼結体を得る。この手法では、マイクロ光造形法を用いることで、任意の三次元構造を有するスキャフォールドを高分解能で作製できる。さらに、本手法は、セラミックススラリーを用いたモールドイング技術を利用することで、任意のセラミックス材料を利用できる利点もある。本研究では、骨や歯のスキャフォールドの作製を目的とするので、セラミックス材料としてリン酸三カルシウム(β -TCP)を用いる。

3. 研究結果

3-1 高濃度スラリーの作製 セラミックス材料であるスラリーは、セラミックス微粒子・純水・分散剤の三つの成分から構成される。分散剤は、微粒子表面に吸着して、微粒子の分散性を向上させる役割を担う。高い分散性をもつスラリーを用いれば、より強度の高いセラミックスを得ることができるため、最適な分散剤添加量を明らかにする必要がある。そこで、分散性の指標となる ζ 電位を測定した(図2)。測定結果から、分散剤添加量が4wt%以上では、 ζ 電位がほぼ一定値になることが判明した。これは、分散剤添加量3~4wt%の範囲で、分散剤が微粒子表面を完全に覆ったと推察できる。よって、分散剤添加量は、3~4wt%が最適であると言える。この結果、スラリーに混合する純水の添加量を最小限に抑えた高濃度スラリーを作製できた。

3-2 充填方法の比較 作製したスラリーを充填する手法として、真空処理と遠心処理の二つ方法を試みた。実験では、まず、多孔質体の側面と底面が樹脂薄膜で覆われた樹脂モデ

Fig. 1 Procedure of 3D ceramic molding process based on microstereolithography using ceramic slurry.

Fig. 2 Zeta potential of slurries with different concentration of dispersant.

Fig. 3 TG curve of a photopolymer using optimized heating profile.

Fig. 4 Incus model: (a) 3D polymeric mold. (b) 3D ceramic porous scaffold. The scale bar is 1mm.

ルを作製した。次に、この樹脂モデルに対して、二つの手法でスラリーを充填した。最後に、乾燥工程によりスラリーを固化させた樹脂モデルを観察した。実験結果から、真空処理では樹脂モデル内部にスラリーを充填しきれないが、遠心処理では樹脂モデルの底部にまで充填できることが判明した。これにより、充填には遠心処理を用いることに決定した。

3-3 光硬化性樹脂の熱分解制御 脱脂工程は、樹脂モデルを熱分解させるプロセスである。このとき、樹脂モデルの気化量は一定であることが望ましい。その理由は二つある。一つ目は、急激な気化反応は転写体のき裂・崩壊のリスクを上げるためである。二つ目は、脱脂時間をより短くすることである。そこで、マスターデコンポジションカーブ (MDC) 理論による昇温プログラムの導出を行った[4]。

$$\int_0^f \frac{1}{k_0 m_0^{n-1} (1-f)^n} = \int_0^t \exp\left(-\frac{T}{QR}\right) \quad (1)$$

式 (1) の Q は活性化エネルギーである。樹脂モデルの材料である光硬化性樹脂は、複数の物質から構成されているため Q が一つの値に収束しない。つまり、重量減少率 f が変化すると Q も変化する。MDC 理論を利用するためには、 f に対する Q が既知でなくてはならない。そこで、 Q を推定するために昇温速度が異なる複数の Thermogravimetry (TG) を測定した。そして、推定した Q を基に脱脂工程で用いる昇温プログラムを導出し、光硬化性樹脂の気化量を一定にする温度制御を行った (図 3)。図 3 に示したように、脱脂工程が 2000 min で終了する理論値を実験値が追従していることがわかる。このことから、脱脂時の樹脂モデルの気化量を一定にする温度制御に成功した。

3-4 スキャフォールドの作製 まず、マイクロ光造形により耳小骨樹脂モデルを作製した (図 4(a))。この樹脂モデルは、多孔質体から成る耳小骨形状を薄膜で覆ったものである。次に、作製した樹脂モデルに対してスラリーを遠心処理で充填した。そして、MDC 理論により導出した昇温プログラムを用いて、樹脂モデルの多孔質体形状を β -TCP へ転写することに成功した。最後に、転写体を焼結することで多孔質スキャフォールドの作製に成功した (図 4(b))。

4. 結論

バイオセラミックスの一種である β -TCP 微粒子を用いたマイクロ光造形モルディングを確立した。まず、マイクロ光造形によって多孔質体から成る複雑な樹脂モデルを作製した。さらに、 ζ 電位測定により分散剤添加量を最適化し、MDC 理論により脱脂工程を最適化した。その結果、複雑な多孔質体形状を β -TCP へ転写することに成功した。実証例として、耳小骨モデルと $60\mu\text{m}$ の細孔を有する多孔質スキャフォールドを作製できた[5]。今後は、作製したスキャフォールドに細胞を培養することで、最適な細胞増殖環境を究明する。

本研究は、科学研究費補助金 (基盤研究(B))、天田金属加工機械技術振興財団、御器谷科学技術財団の助成を受けて行われた。

引用文献

- [1] Bong-Soon Chang, Choon-Ki Lee, Kug-Sun Hong, Hyuk-Joon Youn, Hyun-Seung Ryu, Sung-Soo Chung, Kun-Woo Park: *Biomaterials* **21** (2000) 1291
- [2] Wai-Yee Yeong, et al.: *Trend in Biotech.* **22** (2004) 643.
- [3] A. Woesz, T, et al.: *Mat. Sci. Eng. C* **25** (2005) 181.
- [4] C. B. DiAntonio, et al.: *J. Am. Ceram. Soc.* **88** (2005) 2722.
- [5] T. Torii, M. Inada, S. Maruo: *Jpn. J. Appl. Phys.* **50** (2011) 06GL15