人工臓器と生体組織のインターフェースとなる Scaffold の 3 次元構築に関する研究

Study on 3- Dimensional Construction of Scaffold for Interface
between Artificial Organs and Biological Tissue○野中一洋¹, 矢口俊之¹, 相原達也¹, 内田祐也¹, 住倉博仁², 福井康裕¹, 舟久保昭夫¹

1. 東京電機大学 2. 東京電機大学大学フロンティア共同研究センター

OK. NONAKA¹, T. YAGUCHI¹, T. AIHARA¹, Y. UCHIDA¹, H. SUMIKURA², Y. FUKUI¹, A. FUNAKUBO¹

1. Tokyo Denki University, 2. Frontier Research and Development Center Tokyo Denki University,

1. 結言

金属や樹脂が主体となって構成されている人工臓器に対し、生体適合性を向上させ、機能を付加させるには、生体組織と人工臓器の間に細胞足場(Scaffold)を構築し、炎症や癒着を防ぐことが重要である。そして Scaffold を構築する際には、微視的な細胞外環境の整備および複雑に構成される立体構造の組織設計・加工・構築システムが必要である。

電気的原理を利用したエレクトロスピニング法(Electro-Spinning, E.S 法: Fig.1)は体内環境を再現するための基幹的技術として有効な作製法である。E.S 法の利点として、生体の細胞外マトリックスに類似したナノスケールのファイバーを 3 次元に作製できることや、ナノファイバーが積層することにより、細胞が接着する表面積の増加が可能になるという点が挙げられる。

しかしながら、E.S 法の問題点として表面積の増加に伴い、細胞が 3 次元に侵入するための空隙が失われるため、立体的な組織化が困難であるということが挙げられる。また反対にマイクロファイバーで Scaffold を構築した場合、空隙はナノファイバーと比較して増加させることはできるが、表面積を確保することが困難になる。そこで本研究では細胞接着および細胞侵入を促進させるため、E.S 法を用いてナノファイバーとマイクロファイバー双方の利点を活かした Scaffold を作製した。

Fig.1 Schematic diagram of electrospinning apparatus : Nonwoven structure was fabricated by rotating the target.

2. 実験方法

Scaffold を構築するための材料としてセグメント化ポリウレタン (Segmented Polyurethane: SPU) を使い、テトラヒドロフラン (Tetrahydrofuran : THF) と *N, N*-ジメチルホルムアミド (*N, N*-dimethylformamide: DMF) の溶媒を用いて SPU を溶解し、SPU 溶液を調合した。次に E.S 法により、Table.1 に示した条件により設定した値でファイバーを噴射させ、マイクロファイバーを 5min、ナノファイバーを 60min 交互に各 8 回噴射し、ナノ・マイクロファイバーの 2 層から成る Scaffold を作製した。作製した Scaffold の構造を走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope : SEM) により観察し、無作為に各ファイバーの径を 10 箇所測定し、平均値を算出した。また Scaffold の重量および体積を求め、右に示した式 (1) より空隙率を算出した。

Table.1 Fabrication condition of fibrous scaffold

	Nano fiber	Micro fiber
Polymer concentration	13.0%	16.0%
Solvent mixing ratio	THF/DMF, 70/30v/v	THF/DMF, 80/20v/v
Applied voltage	11.0 kV	11.0 kV
Jet distance	15.0 cm	15.0 cm
Flow rate	0.24 ml/h	11.81 ml/h

$$P = (1 - W / V) \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

P : 空隙率[%] W : サンプル重量[g] V : サンプル体積[cm³]

3. 結果および考察

Fig.2 に SEM による作製した Scaffold の表面画像を示す。Fig.2 より、作製した Scaffold は、ナノファイバーおよびマイクロファイバーがそれぞれ混在して形成していることが確認され、ナノファイバーの平均繊維径は $628 \pm 154 \text{ nm}$ であり、マイクロファイバーの平均繊維径は $6.07 \pm 0.83 \mu \text{m}$ であった。また式 (1) より作製した Scaffold は 60.9% の空隙率が得られた。さらに上記の式で算出したマイクロファイバーのみで積層した Scaffold の空隙率は 76.4% であった。今回作製した 2 層構造を有した Scaffold は、ナノファイバーの影響で空隙が失われてしまったと考えられる。この問題を改善するには、3 次元上においてファイバーの配交性やナノファイバーとマイクロファイバーの混合比率に関して検討を行う必要がある。

Fig.2 SEM micrograph of electrospun scaffold with nano-micro fiber structure

4. 結語

本研究では、Scaffold に高い空隙および広い細胞接着面積を持たせるために、ナノ・マイクロファイバーを混在させた Scaffold を作製した。今後、*in vitro* 実験により、細胞が Scaffold の繊維内部に侵入しやすい最適な構造を解明していく。また人工臓器に応用するために重要な機械的強度試験や耐久性試験に関しても検討を行っていく。

文献

- 1) Kidoaki S, Kwon IK, Matsuda T. Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. Biomaterials 26 37-46, 2005.