

積層造形技術（ラピッドプロトタイピング技術）を応用した 肝臓の再生医療用足場の製造

東京大学生産技術研究所 助教授 新野 俊樹
助教授 酒井 康行

1. 概要

人工臓器や臓器移植の多くの欠点を克服出来ると期待されている再生医療は、皮膚など一部の臓器や組織において実用レベルに到達しているが、肝臓を始めとする多くの内臓組織には、個々の要素技術に於いて越えなくてはならない高いハードルが数多くのこっている。本研究では、再生医療の3大要素のうちの足場の製造の問題に対して、粉末焼結積層造形法と呼ばれるラピッドプロトタイピング技術を応用した解決に取り組んでおり、今回そのような取り組みの有効性について確認ができた。

2. 内容

はじめに

生体適合性確保の困難、高次機能の欠如やドナー不足などの問題を抱える人工臓器や生体臓器移植に対して、自分の細胞を開始点として培養を行い、病気や事故による、あるいは先天性の機能不全をかかえる臓器を置き換えようとする再生医療は、新しい医療としてこれまで大変注目されてきた。一般に再生医療は、培養の開始点となる細胞をどうするかという問題、また、その細胞をどのように培養するかという培養条件、さらには培養した細胞の足場となり再生される組織に形状を付与する足場（担体）をいかに作るかという3つの要素技術から構成される（図1）。本研究はこの足場、特に肝臓組織の再構築をターゲットとした足場の製造技術に関するものである。

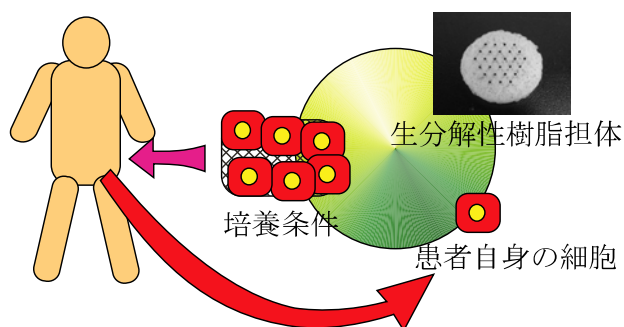


図1 再生医療の3要素

何が難しいのか？課題は？

現在実用レベルに達している再生医療には皮膚の再生がある。皮膚組織においては、組織の形状が2次元的であるということと、皮膚組織が毛細血管から比較的はなれた位置で酸素や栄養の潤沢な供給を受けられなくても成長していけると言うこととの2つの特徴からその再生が比較的容易である。一方、3次元的な内臓組織では、比較的再生能力が旺盛であると言われている肝臓でも、各細胞は細かく張り巡らされた毛細血管から酸素や栄養

の供給を受けており、血管からあまり離れてしまうと壊死を生じる。したがって肝臓を再生するための足場には、高い空孔率と3次元的な構造を有するという特徴に加えて、内部に培養液が流れる流路が網の目のように張り巡らされている必要がある。しかしながら生体肝の毛細血管の直径は最も細いところで $10\mu\text{m}$ 程度であり、この細かさを完全に模倣した流路網を生体肝と同じ大きさをもった足場のなか全体に張り巡らせることは、現在の製造技術では非常に困難か不可能であり現実的ではない。そこで本研究では、実現可能な細かさをもった足場を利用して、生体外である程度の機能を有する“前駆臓器”まで培養し、次に生体内に移植して最終的な構造と機能の完成を期待するという現実的なアプローチをとる。実際、培養液中の酸素の拡散を考えれば、流路径 $100\mu\text{m}$ の流路が四面体の辺を積み重ねたような形でネットワークを組んだ場合(図2)、1辺の長さが $400\mu\text{m}$ 程度であれば、足場の中が生体肝と同じ密度の細胞で満たされたとしても十分細胞をサポートできるという計算結果も得られている(図3)。

従って本研究では、図2のような流路をもつ、スポンジ状(多孔質性)の足場を、生体吸収性の材料で(足場はいずれ無くならないのであればこの性質が必要)造形し、なおかつ流路をできるだけ細かくしていくことが課題となる。



図2 四面体を組み合わせた形状の流路ネットワーク。(a)積み重なった様子、(b)流れの様子

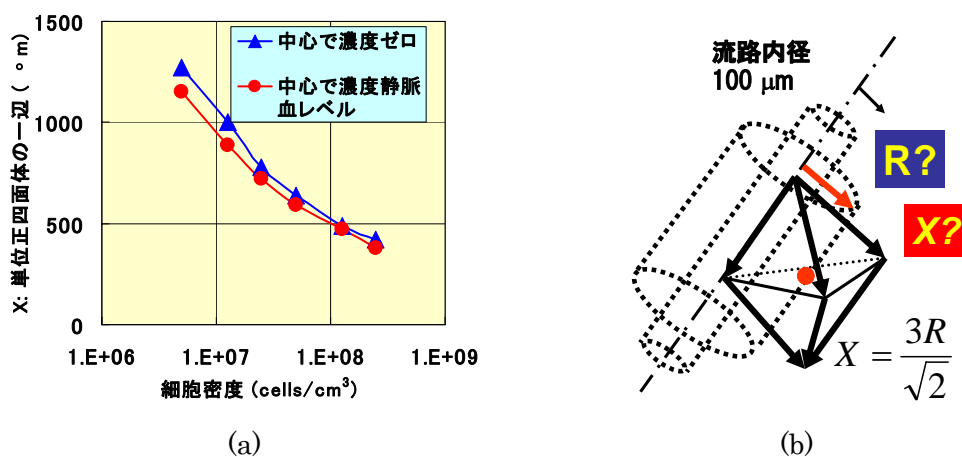


図3 分散による酸素の供給。(a)サポートできる細胞密度と四面体の辺の長さの関係、(b)流路からの距離と辺の長さの関係

粉末焼結積層造形法 (SLS 法)

光造形を始めとする積層造形技術は、入り組んだ3次元形状を比較的容易に加工できることから、通常金型を使って作るプラスチック部品の形状確認用の試作などに多く利用され、迅速に試作すると言う意味でラピッドプロトタイピングと呼ばれていた。積層造形技術が開発された当初、これらの試作品は強度面などで実際の部品としての使用に耐えないことが多く、用途はあくまで試作に限定されていたが、近年部品としての使用に耐えうる強度を有する材料を造形できる技術が開発されたことから、実際に使用される部品の単品生産、少量生産、もしくは大量生産品の金型が間に合うまでの初期ロット生産などにも利用されるようになった。試作ではなく生産へ利用はラピッドマニュファクチャリングとよばれ、応用拡大への試みが欧米を中心に急速に加速している。

本研究では、現在ラピッドマニュファクチャリングに最も多く利用されている粉末焼結積層造形という技術を利用している(図4)。この技術は多くの材料がもっている熱可塑性という普通の性質を利用した造形方法のため、生体吸収性が必要とされる足場材料の選択肢も広く、また溶剤など毒性が懸念される材料も利用していないため、足場の造形に適している。さらに、粉末を熱的に一部熔融させて形状を作ることから、原理的にある程度の空孔をもったものを造形できることも足場を造形する際の利点となる。

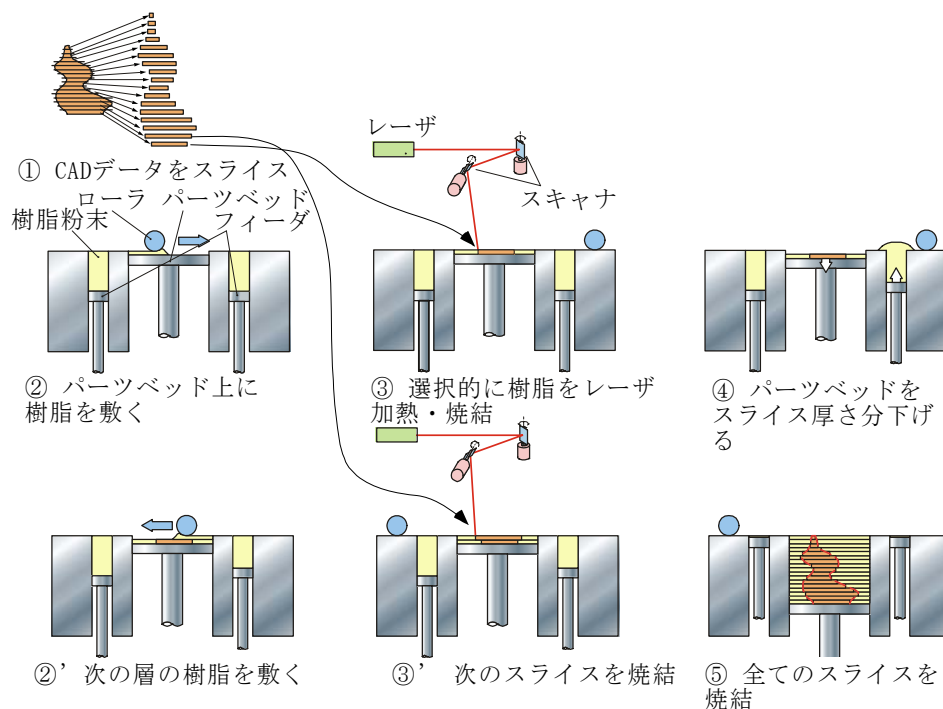


図4 粉末焼結積層造形法の概略 ①まず造型対象の3次元CADデータを計算機上でスライスし多数の断面を得る。②次にパーツベッド上に薄く熱可塑性の粉体を敷き詰め(リコート), ③先に計算した断面状にレーザーを照射して粉体を選択的に焼結する。④パーツベッドをスライスの厚さに相当する高さだけ下げる。以上を最上層の断面を焼結するまで繰り返すと粉末内にCADデータで定義された焼結体を得ることができるので⑤最後に粉末からこれを取り出す(ブレイク作業)。

水溶性フィラーを用いた粉末焼結積層造形

一方、解決すべき課題も数多くある。まず第1に造形の微細性がある。この点に関しては、現在、市販されている粉末焼結積層造形装置が搭載しているレーザーの径が500 μm 程度と非常に大きいため、先に述べた微細性を有する流路は造形できない。今後レーザーの径を小さくしていくことで対応することとした。なお、海外では微小径のレーザーを使って代表

寸法が20 μm 程度の微細な構造物を造形したとの報告もある。第2に空孔率不足の問題がある。肝臓組織再生用の足場には90%以上

の空孔率が必要

とされるが、材料となる粉末の造形前の空孔率は概ね60%以下であり、レーザーで加熱することによりさらに詰まることを想像すれば、必要とされる空孔率はどうも望むべくもない。そこで、材料粉末に水溶性でなおかつ材料粉末よりも融点の高い材料からなる粉末を混ぜて造形し、造形後に水に溶かすことによって、高い空孔率を得ることとした(図5)。

さらに、この水溶性フィラーを用いることは、以下に示すようないくつかの問題を解決してくることとなる。解決すべき問題の第3はブレイク作業の困難である。粉末焼結積層造形法では積層と焼結を繰り返す機上のプロセスが終了した後、未焼結樹脂を取り除く“ブレイク”作業を行わなければならない。すなわち、機上作業終了直後の流路の中は未焼結の樹脂で満たされており、これを何らかの方法で外に出さなくてはならないわけであるが、穴が細くしかも分岐・合流を繰り返していれば、力学的な方法でこれを取り除くことは事実上不可能である。ところが、穴の中に詰まっている粉末のうち水溶性フィラーは後の作業で水に溶けて無くなってしまったため、粉末はその支持力を失い容易に穴の外へと排出されることになる(図6)。最後に第4の問題は造形された足場の力学的強度である。造形された足場では空孔率が非常に高いため、その強度が低くなる懸念がある。粉末と粉末を部分溶解させて結合させる粉末焼結積層造形法では、溶着部の強度が低く、これを改善するためにはレーザーエネルギーを十分に供

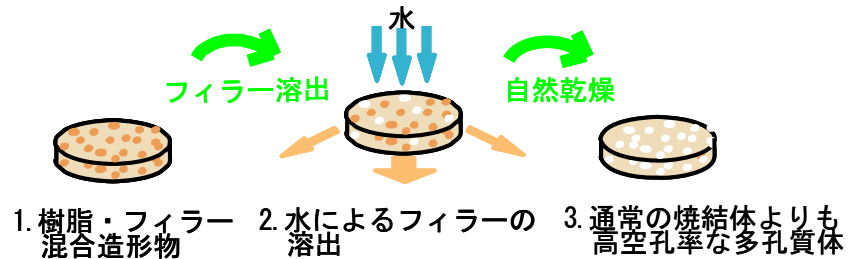
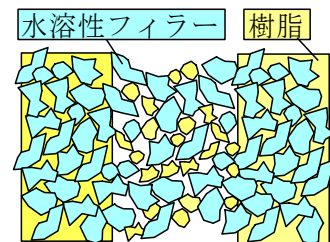
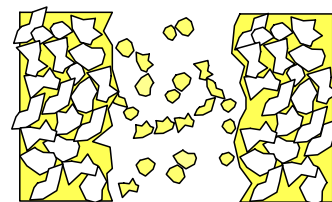


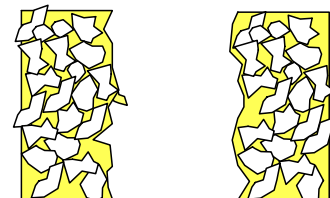
図5 フィラーを用いた空孔率の向上



a) 造形後



b) フィラー溶出後



c) 穴内部樹脂除去後

図6 水溶性フィラーによる穴内部の樹脂の除去

給して十分に樹脂を溶かさなければならないが、十分に溶けた樹脂が再固化する際にはか
ならず収縮が生じ、これが造形物をカールさせる力となるため、供給できるレーザエネル
ギには制限がある。しかしながら、フィラーを用いた本手法では樹脂に収縮が生じよう
としても、硬質なフィラーがいわゆる“つかえ棒”の役割をしてこれを拘束し、応力は発
生するが収縮は制限される。この効果により造形物をそらせることなく、十分なエネルギ
を供給して造形を行うことができる。

造形実験および評価

足場の材料にはポリカプロラク톤を使用した。これを平均粒径 $50\mu\text{m}$ の球状に加工し
(トライアル (株))、粒径 $100\mu\text{m}\sim 150\mu\text{m}$ に篩った食塩粉末を水溶性フィラーとして、
プラスチック 1 に対して食塩 4 の重量比で混合し、粉末焼結積層造形の材料として利用し
た。粉末焼結積層造形には開発中の試作装置を利用した。

造形した足場及び流路の設計形状を図 7 に示す。各流路の径及び長さはそれぞれ 1mm と
 4mm 、上下各 6 段に積層された四面体の辺の部分に配置されている。足場は紡錘形状をし
ており、全体の体積は 13cm^3 である。

図 8 に造形した足場を示す。足場の質量は 1.7g であり、空孔率は 89% となった。フィラ
ーとして用いた食塩は、2 時間浸した純粋中の塩分濃度が生理的食塩水のその 3 万分の
 1 以下まで低下する程度まで除去することができた。X 線透過像 (図 9)、X 線 CT 像 (図
 10) に示されるように、流路内の粉末は完全に除去されていることが確認された。また、
通常の手作業では破壊しない程度の強度が得られた。

これまでに、この方法によって製作された足場を用いた培養により生体肝の 10% 程度ま
での細胞密度が得られている。また、流路の無い場合に比べて 4 倍程度の細胞密度が得
られており、流路の必要性が確認された。

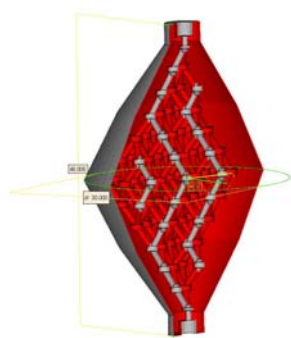


図 7 足場と流路のデザイン



図 8 造形した足場

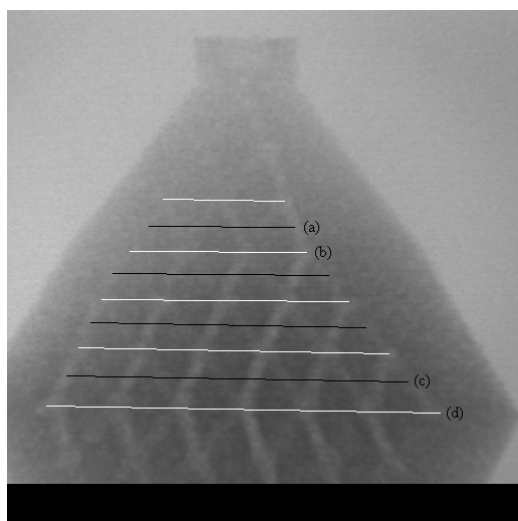


図9 足場のX線写真

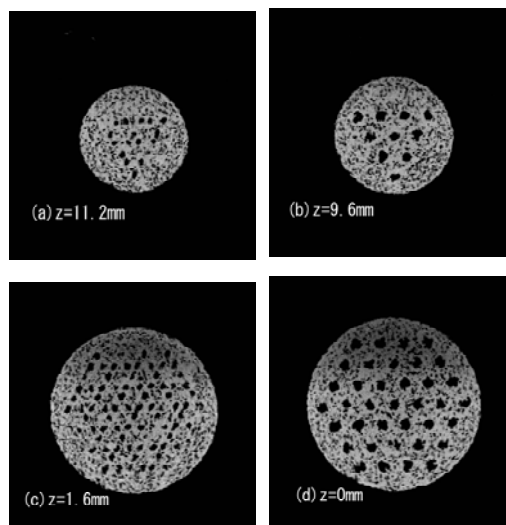


図10 CT再構築画像

おわりに

これまでに得られた成果から、流路の必要性が確認された。さらに生体肝に近い密度に向上するには、流路の1/10程度までの微細化が必須であるが、その程度の微細性が得られたという報告も、足場の造形ではないが少しずつ出始めている。以上より、本手法が肝の環流培養用足場の造形法のスタンダードとなる可能性があることが示された。なお、現在本研究グループでは科学研究費補助金による補助をうけ、さらに細密な構造の足場を造形する手法及び装置を開発中である。

3. 発表の予定など

足場の造形については簡単な評価については、本年8月にオースチンで開かれた Solid Freeform Fabrication Symposium で発表された。また、培養までを含む詳細な結果は11月にサンフランシスコで開かれるアメリカ化学工学会2006年会での日米医工学シンポにて口頭発表の予定である。