

C320

機能性組織の作製を目指した3次元バイオフィブレーション技術

(富山大) ○(正) 岩永進太郎*・中村真人

1. はじめに

近年、急速に発展しつつある組織工学の研究での最大の課題は、生体組織のような厚みのある巨大な組織の作製である。様々な手法で試みられているが、人の手作業による細胞培養だけではどうしても限界がある。機能性組織・巨大組織の作製には血管網の作製や多種細胞での構成・構造が極めて重要であり、パターンニングや共培養技術をはじめ、工学技術が必要不可欠である。そこで本研究では、これからの発展にはコンピューターや機械を用いた人の手を超える組織工学技術が必要と考え、CADやCAM技術の再生医療研究への応用展開を目指して、インクジェットプリンターを用いた3次元バイオフィブレーション技術の研究開発に取り組んできた。

今回、インクジェットバイオプリンターによる機能性組織の作製に有効な生体材料を探索し、その結果と期待される医療応用への展望について報告する。

2. 実験方法

3次元バイオフィブレーションに有効な生体材料として、タンパク質やアミノ酸と反応し、架橋を作りゲルを形成する活性エステル基を有するポリエチレングリコール(PEG-NHS)に着目した。本研究で試作したバイオプリンターを用いて、 ϵ -ポリリジン(PL)溶液をインクとし、PEG-NHS溶液中に吐出し、溶液中で架橋させることによってゲルシートの作製を行った。また、PLもPEG-NHSも細胞の接着性がほとんど期待できないため、細胞接着性をもったゲル構造を作製するためにPLの代わりにゼラチンおよびフィブリノーゲンを吐出し、シートの作製を試みた。さらに、ゼラチンおよびフィブリノーゲンにPLを混合してゲル化能を調べ、また、PEG-NHS溶液で架橋したゲル上で細胞培養を行い、細胞の接着性・増殖性を評価した。

3. 実験結果

PLとPEG-NHSの2液混合は中性条件下で良好にゲル化し、バイオプリンターでゲルシートを作製することに成功した。Figure 1にPLを吐出したPL/PEGゲルシートの図を示す。次に細胞接着能を期待して、PLの代わりにゼラチンとPEG-NHSのみでゲルを作製したところ、中性範囲ではゲル化の速度は30分以上かかってしまった。また、フィブリノーゲンとPEG-NHSのみではゲルは作製されないかもしくは凝集して沈殿してしまうことがわかった。ゼラチン、フィブリノーゲンのみではPEG-NHS溶液中にバイオプリンターで

打ち出してもゲル造形物の作製は困難であることが示された。そこで次に、ゼラチン、フィブリノーゲンにPLを混合してPEG-NHSと混合してゲル化能を検討した。その結果、いずれもPL添加によりPEG-NHSとのゲルの形成が可能となり、ゲル化時間も大幅に短くなることを見出した。また、ゼラチンおよびフィブリノーゲンとPLを混合して作製したゲル上で細胞を培養したところ、細胞の接着・伸張が観察された(Figure 2)。

4. まとめ

PEG-NHSと反応し2液混合で瞬時にゲル化するPLをインクに用いることで、バイオプリンターによる3次元ゲル構造体の作製が可能であることが示された。また、ゼラチンやフィブリノーゲンなどの生体材料にPLを添加することでゲル化が促進し、細胞の接着・伸張が可能なゲルが実現した。有効なバイオインクを用いることによって、細胞の育成が可能な細胞組織を工学的に3次元造形で作製できる可能性が示唆された。

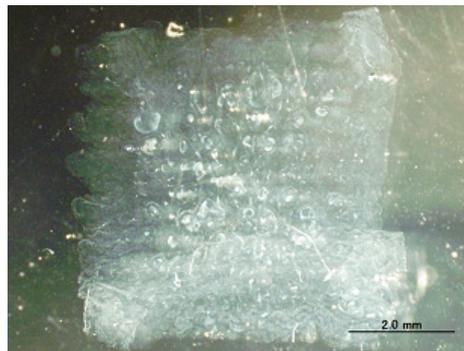


Figure 1 バイオプリンターで作製したPL/PEGゲルシート

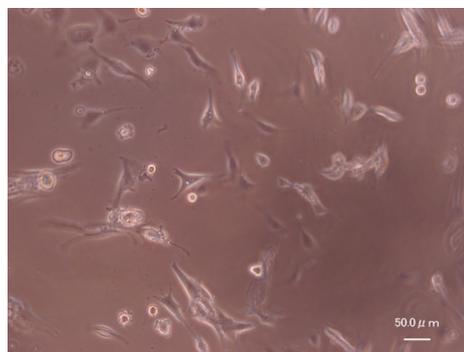


Figure 2 ゼラチンを混合したPL/PEGゲル上での細胞培養 (細胞: 3T3-Swiss Albino, 培養1日目)

* e-mail: iwanaga@eng.u-toyama.ac.jp