研究論文

# 高齢化社会に適した再生医療普及のための安価な培養システムの開発（第２報）

明歩谷　英樹*

Development of Low Priced Culture System for Regenerative Medicine Spread that is Appropriate for Aging Society II

MYOUBUDANI Hideki*

**抄　　録**

平成20年度に続き[1]，再生医療に使用するための細胞培養用の柔らかい足場の開発を行った。その結果，新潟県繊維産地が持つ編み技術などを活用し，天竺編み地で問題となっていた編み地のメクレ上がりを防止する処理を見いだし，また培養細胞との親和性をあげるため，UVオゾン加工を施しぬれ性を向上させた細胞培養用足場を試作できた。

## 1.　緒　　言

事故や病気などで失われた身体の一部の機能を回復するための再生医療は，近年大変注目され，各方面で開発が進められている。再生医療の開発要素としては，細胞（培養），足場，増殖因子の３つがある。その内，細胞培養時や移植時に細胞を保持するための足場は，これまで牛由来のコラーゲンや屍体皮膚，豚コラーゲンなどの生体材料が使われてきたが，近年，ポリ乳酸（以降 PLA）やポリグリコール酸（以降 PGA）などを用いたスポンジやフィルムと言った合成材料も登場してきている[2) 3)]。当センターでは，取り扱い易い PLA やポリジオキサノン（以降 PDO）などの生体内分解吸収性繊維を用いて，柔らかいニット足場を開発することを目標として研究を行った。

なお，本研究は新潟大学，HOYA(株)，(株)ジュース，(株)ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング，新潟県工業技術総合研究所がそれぞれテーマを分担し進めている(独)科学技術振興機構 JST イノベーションサテライト新潟の実用化のための育成研究課題「高齢化社会に適した再生医療普及のための安価な培養システムの開発」において実施されたものである。

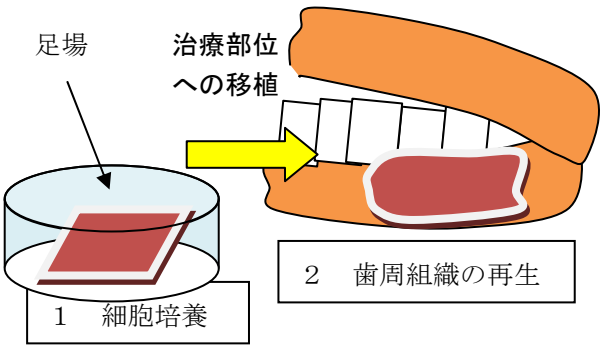


図１　細胞培養足場

## 2.　PDO繊維を用いたニット足場の開発

足場は図１に示したようにシャーレなどの中で増殖させたい細胞を乗せ，細胞を培養する。その後，足場は幹部へ移植され，最終的には治癒するとともに，体内で分解吸収されることとなる。

我々は生体内分解吸収性繊維を新潟県のニット産地が持つ技術を用い編み立てることで，編み地状の足場を開発することに取り組んできた。昨年度までに①．組紐状の縫合糸を編み立てた足場，②．①を解きさらに編み立てたニット・デニット足場，③．PLA モノフィラメントを編み立てた上に，エレクトロスピニング法によって PLA 不織布を形成させた複合足場（図２

* 素材応用技術支援センター

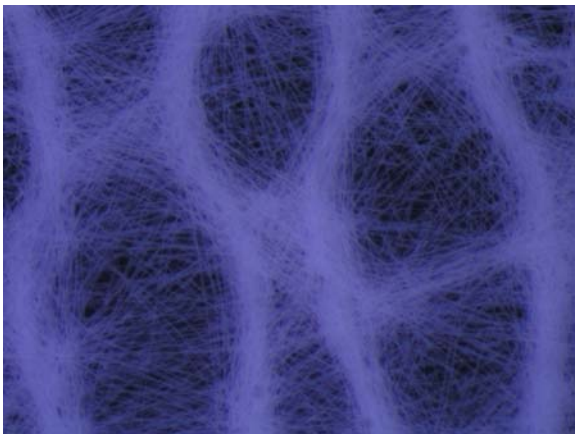

図 2　エレクトロスピニング複合足場

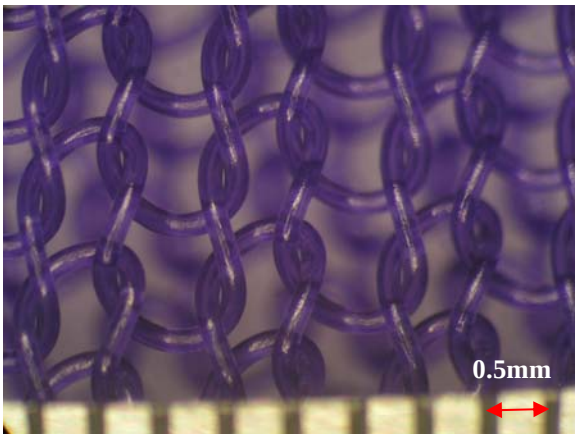


図 3　天竺ニット足場（PDO5-0）

参照）を試作した。本年度は PDO モノフィラメント縫合糸を用いた編地を作製し，播種した細胞がニット足場に保持しやすくなるよう表面改質した足場を開発した。

### 2.1　PDO繊維縫合糸

PDO 繊維の足場作製には，ケイセイ医科工業(株)製のモノフィラメント縫合糸である次の 2 種類を使用した。

・PDO　7-0：106dtex./1
・PDO　5-0：349dtex./1

この縫合糸は，釣り糸のような 1 本の丸断面の糸であり，コーティングが施されていない縫合糸である。PDO7-0 は PDO5-0 に比べ繊維の直径が細い。

### 2.2　ニット足場の作製

足場開発においてポイントとなるのは，連通孔と呼ばれる表面から裏面までが貫通した穴の存在である。この穴によって血管の侵入が可能となり，酸素や栄養分の行き来ができるようになると言われている。しかし，細胞（直径が 10μm～100μm）[4] が穴から抜け出す懸念もあることから，編地作製の際により小さな網目を形成する必要がある。この天竺ニット作製には丸編み機（20 ゲージ）を用いた。比較試料と

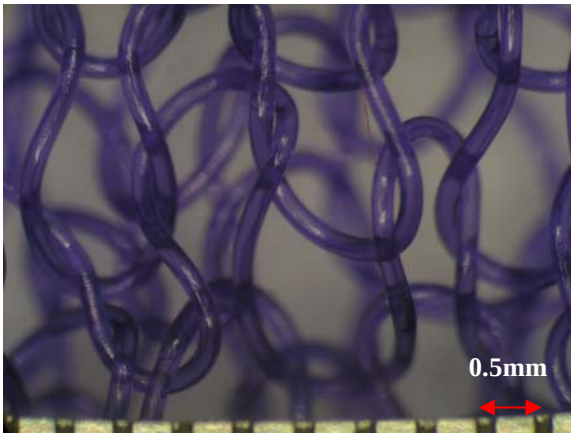


図 4　ニット・デニット足場（PDO5-0）

して，この天竺ニットから糸をほぐし，15 ゲージ横編み機で天竺編地に編みなおし不規則なループ形状としたニット・デニット編地を作製した。その後，網目の大きさをより小さくするため，75℃の熱水にて収縮させ，網目の直径を約 100μm まで縮めた。図 3 には天竺ニット足場を，図 4 にはニット・デニット足場の拡大写真を示した。

### 2.3　表面処理方法の開発

先の項で示した PDO 繊維の天竺ニット足場，ニット・デニット足場について，アルコール洗浄後，新潟大学にて 3 日間の培養試験を行った。その結果，細胞が足場上に保持されておらず，ほとんどなくなってしまった。この原因を検討していく中で，網目の大きさが 100μm と細胞の

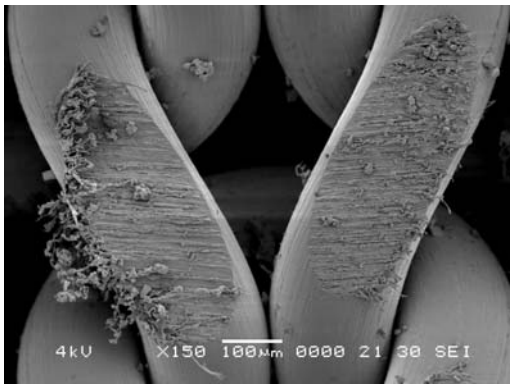


図 5　摩擦加工後のニット足場表面

大きさに比べ大きいことや PDO 繊維の表面が細胞と相性が悪く，滑り落ちるのではないかとの見解を得た。

この項では，PDO 繊維のニット足場に各種表面処理を行い，細胞の付着保持が向上するような処理方法を検討した。

### 2.3.1　研磨布による溝作成

物理的に溝を与えることで，細胞の付着を向上させることを期待し，研磨布によってニット足場表面に凹凸をつけた。磨耗方法は JIS　L 0849:2004　摩擦に対する染色堅ろう度試験方法に規定の摩擦試験機 II 形（学振形）を用いて行った。

・研磨紙：CC-1000

・磨擦回数：100 回

加工後の表面状態を拡大した電子顕微鏡写真を図 5 に示した。

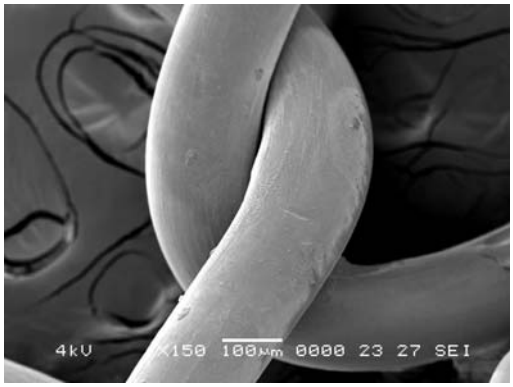


図 6　エッチング後のニット足場表面

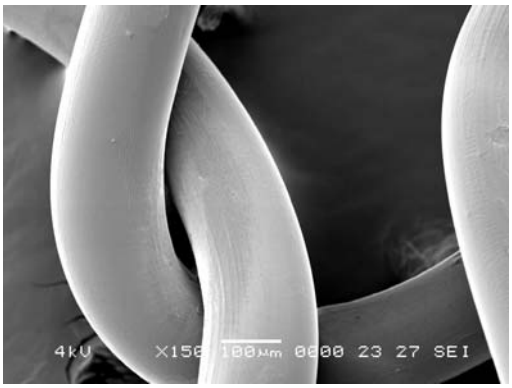


図 7　UV オゾン処理後のニット足場表面

### 2.3.2　エッチング処理による表面改質

ニット足場上に電気エッチング処理を行い，表面改質を試みた。

加工機：小型ロードロック式スパッタリング装置　CFS-4EP-LL

処理時間：30 秒間

加工後の表面状態を拡大した電子顕微鏡写真を図 6 に示した。表面状態は滑らかであった。

### 2.3.3　UVオゾン処理による表面改質

近年電子デバイスの表面を改質，クリーニングする手法として，UV オゾン処理が注目され，多くの企業で利用されている [5)] 。この技術を用いて，ニット足場表面を改質することを試みた。

加工装置：PHOTO　SURFACE PROCESSOR　Model　PL16-110（セン特殊光源(株)）

UV 照度：18mW/cm$^2$

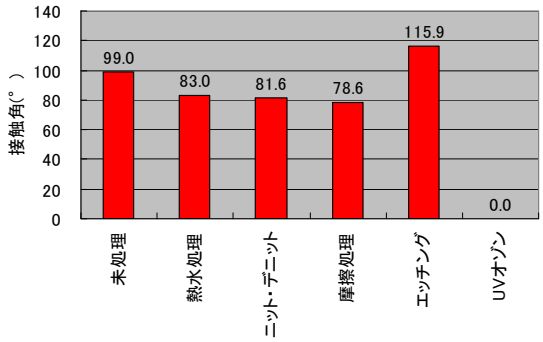


図 8　各種表面改質による接触角比較
（PDO5-0）

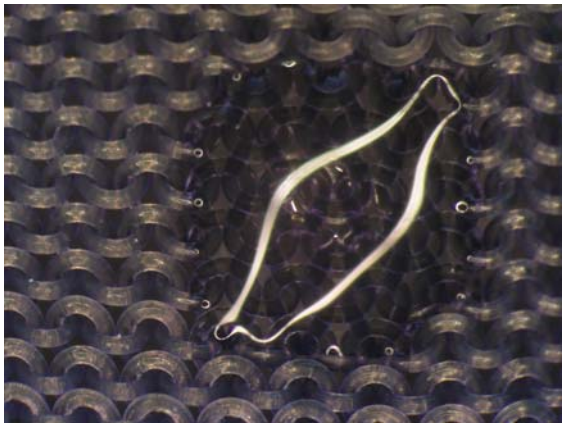

図 10　PDO ニット足場の濡れ性比較
（UV オゾン処理後）

処理時間：600 秒間

加工後の表面状態を拡大した電子顕微鏡写真を図 7 に示す。エッチング処理と同様，取り立てて表面状態に変化は見られず，滑らかな表面となった。

### 2.3.4　濡れ性比較

上記のように作成した表面処理によるニット足場の濡れ性を比較するため，協和界面科学(株)製接触角計 CA-S ミクロ 2 型を用いて接触角を測定した。その結果を図 8 に示した。各処理を比較したところ，UV オゾン処理の接触角が低い値を示し，濡れ性が飛躍的に向上していることがわかる。UV オゾン処理前後のニット足場に水滴を落とした写真を図 9（未処理），図 10（UV オゾン処理後）に示した。未加工では水滴が丸くなり撥水性を示しているのに対し，加工後は水がしみ込み，濡れ性が向上している。よって，PDO 繊維を用いたニット足場表面の濡れ性付与には，UV オゾン処理が有効であることがわかった。次に PLA 繊維を用いたニット足場に UV オゾン処理を行ったが，PDO 繊維の場合と同様に PLA 繊維でも濡れ性が向上し，PLA 繊維の濡れ性向上にも効果があることがわかった。PLA 繊維のニット足場の各表面改質による接触角を比較した結果を，図 11 に示した。数値的にも PDO 繊維の場合と同様の結果となった。

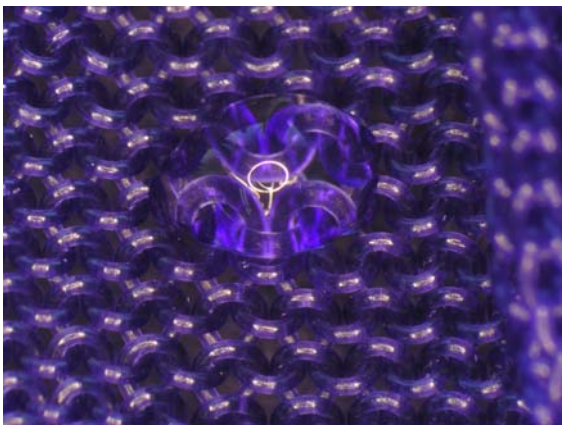

図 9　PDO ニット足場の濡れ性比較
（未処理）

### 2.4　成形方法について

天竺編地でニット足場を作製していくと，図 12 のように，足場がフラットにならずイカを焼

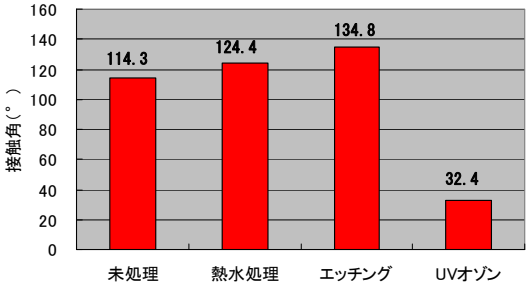


図 11　各種表面改質による接触角比較
（PLA）

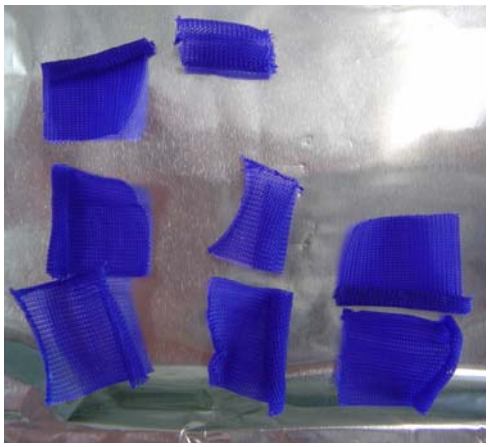

図 12　天竺編地のメクレ

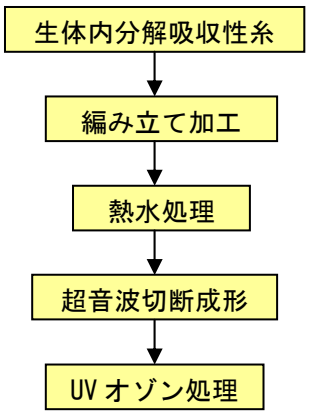


図 14　ニット足場作製工程

いたようなメクレ上がりが発生した。このようなメクレ上がりでは，培養細胞の偏りが発生するなど足場としては不適切であるため，防止方法について検討を行った。

超音波工業(株)製　ULTRASONIC TRANSDUCER を用いて，足場の端部を溶融切断した。その結果，広い面積が硬くなってしまうアイロンなどによる溶融プレス処理とは異なり，切断部分は一部溶融してはいるが，硬くなることなく成形することができた。図 13 にその成形品の写真を示した。

## 3.　細胞培養用足場の商品化について

今回試作したニット足場の作製工程をまとめ，図 14 に示した。

図 13　超音波切断後の足場

細胞培養用ニット足場開発には，原材料である素材についてはコラーゲン繊維やキトサン繊維，PLA や PDO 繊維など多種多様なものが登場してきている。しかし，縫合糸として入手した場合大変高額であり，その入手先も限られてくる。そのような中で，ニット技術を用いての足場作製は，大きな天竺ニットを大量に製造しておき，超音波切断機によって希望する大きさに効率よく切断成形できるため，安価に提供できる方法である。

## 4.　結　　言

(1)　細胞培養用ニット足場に親水性を付与するため各種表面処理を行った結果，UV オゾン処理によって効果的に加工できることがわかった。

(2) 超音波切断機によってニット足場を希望する大きさ・形状に処理することで，ニット足場の弱点であった伝線やメクレ上がりのないフラットな足場を試作することができた。

(3) ニット足場を作製する工程として，糸→編みたて→熱水収縮処理→超音波切断成形→UV オゾン処理を提案した。

## 参考文献

1) 明歩谷英樹，“高齢化社会に適した再生医療普及のための安価な培養システムの開

発”，工業技術研究報告書，2009，No.38，p73-77.
2）服部俊治，“動物由来繊維分子コラーゲンの性質と応用”，繊維と工業，Vol.65，No.12，2009，p453-461.
3）朝倉哲郎，“新しいシルクの生産と再生医療材料への応用”，工業材料，vol.57，No.6，2009，p20-23.
4）藤田聡，岩田博夫，“再生医療分野におけるナノファイバーの組織再生への応用”，繊維機械学会誌，Vol.63，No.3，2010，p146-150.
5）本間孝治，“乾式洗浄”，最新洗浄技術総覧，p209-214.