

〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-1

# 微細ハイドロゲル 3次元モデルの 無機複合化技術の開発

—人工骨モデルの作製、再生医療への応用に期待—

## 本研究のポイント

- ・レーザー3Dプリントした微細ハイドロゲルモデルの無機複合化に成功
- ・無機物の微細加工技術は今後のセラミックス医用材料の開発に寄与
- ・骨を模倣した有機-無機複合細胞足場として再生医療への応用に期待

## 【研究概要】

横浜国立大学の宮島浩樹特任助教、向井理特任助教、丸尾昭二教授、飯島一智准教授の研究グループは、レーザー3Dプリンティングによってゼラチン誘導体からなる微細ハイドロゲルモデルを造形し、無機物で表面修飾することで、有機物と無機物から構成される微細な有機-無機複合3次元モデルを構築しました。この手法で作製した有機-無機複合3次元モデルは、3Dプリントした微細な3次元構造を保持したまま、造形モデル表面近傍を無機物で修飾できるため、将来の人工骨髄や骨置換材など、骨の微細な環境を再現した3次元骨モデルを構築するための技術として、再生医療への寄与が期待できます。本研究成果は、国際科学誌「ACS Biomaterials Science & Engineering」（2024年2月12日付）に掲載され、カバーアートに採択されました。

## 【研究成果】

骨は主に有機物としてコラーゲン、無機物としてカルシウムやリン酸からなるヒドロキシアパタイトから構成される有機-無機複合材料として知られています。骨は軽量かつ高い機械的強度を有する外骨格として機能するとともに、骨の内部に位置する骨髄は血球、免疫細胞産生の中核として、生命活動維持の根幹を担っています。骨髄の微小環境では、血球、免疫細胞の元となる造血幹細胞が間葉系幹細胞など様々な細胞と相互作用することで未分化状態を維持したまま増殖していることが知られています。一方、造血幹細胞は白血病や免疫系疾患などの治療に用いられますが、生体外で機能を維持したまま効率的に増殖させることは困難であり、造血幹細胞の培養技術の確立が求められています。我々の研究グループでは、骨の組成や骨の内部構造が生体本来の骨や骨髄の機能に大きく関わっていると考え、骨を模倣した3次元骨モデルの開発を進めてきました。有機物と無機物を複合化した従来の3次元モデル造形においては、有機物と無機物を混合した溶液をノズルから押し出して硬化させる材料押出法での有機-無機複合モデルの造形が報告されてきました。しかしながら、材料押出法では造形精度がノズル径に制限され、生体内のような微小環境を備えた微細モデルの造形は困難であり、高精細なモデル造形が必要と考えました。そこで、架橋性ゼ

ラチンをレーザー3Dプリントすることで微細なハイドロゲル3次元モデルを構築し、造形した3次元モデルを無機複合化することで、造形したモデルの構造を大きく変化させることなく、無機物を被覆する手法を開発しました。本手法では、微細構造を有するハイドロゲルへの被膜の厚さや、ハイドロゲル内部への無機物の含有量などを制御できるため、生体に近い微小環境の実現が期待されます。

### 【実験手法】

ゼラチンに化学修飾を施したゼラチンメタクリレート (GelMA) は、生体適合性に優れた架橋性高分子材料として細胞培養のための足場材料やバイオプリンティング技術に応用されています。さらには、ゼラチンはコラーゲンを熱変性させたものであり、骨の組成を模倣する材料として有望であると考えました。光開始剤を添加した GelMA 溶液に対して光照射することでレーザー3Dプリンティングを行い (図 1a)、任意の形状の3次元架橋 GelMA (pGelMA) ハイドロゲルモデルを作製しました。光造形した3次元 pGelMA モデルをカルシウムイオンとリン酸イオンの含有した溶液に交互に浸漬する操作 (交互浸漬) によって、3次元 pGelMA モデルの無機複合化を行いました。本研究では、交互浸漬の各溶液への浸漬時間を10秒と110秒、浸漬回数 (サイクル数) を5サイクルと15サイクルに設定した計4条件で交互浸漬を行い、造形モデルの無機複合化を検証しました。簡易的な造形モデルである線幅約600  $\mu\text{m}$  の pGelMA 線状モデルについて交互浸漬を行ったところ、浸漬時間の短い10秒、5サイクルや10秒、15サイクルの条件ではライン造形物の表面近傍付近のみ、浸漬時間の長い110秒、5サイクルや110秒、15サイクルの条件ではライン造形物の内部まで無機物で修飾されることが観察されました (図 1b)。このように交互浸漬の浸漬時間およびサイクル数の条件の違いによって、モデルに対する無機複合化に違いが出ることを実証しました。それぞれの交互浸漬の条件で析出した無機物を解析した結果、全ての交互浸漬条件の析出物がヒドロキシアパタイトであることが確認されました。

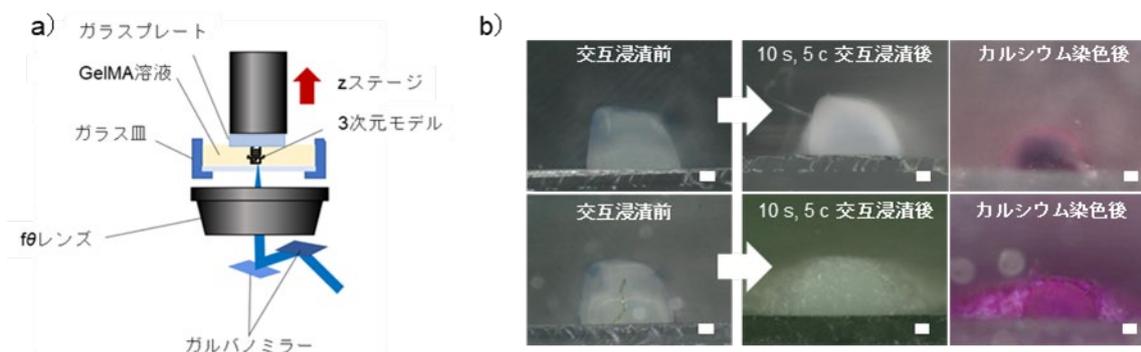


図 1. a) レーザー3Dプリンティングによる3次元 pGelMA モデル造形の模式図. b) 線幅600  $\mu\text{m}$  の pGelMA 線状モデルの交互浸漬 (スケールバー: 100  $\mu\text{m}$ ) .

より複雑な立体モデルとして、pGelMA ピラミッド型モデル (図 2a) をレーザー3D プリンティングにより造形しました。造形した pGelMA ピラミッド型モデルを 10 秒、5 サイクルの条件で交互浸漬したところ、造形したピラミッドの構造を保持したまま、モデルをヒドロキシアパタイトで複合化することができました (図 2b)。また、ヒドロキシアパタイト複合化した pGelMA ピラミッド型モデルを間葉系幹細胞の細胞足場として応用したところ、モデル表面上での細胞の接着、伸展が見られ、骨および骨髄のモデルとして応用可能な無機物表面を備えた有機-無機複合 3 次元モデルであることが示されました。



図 2. a) ピラミッド型モデルの概略図. b) レーザー3D プリンティングによる 3 次元 pGelMA ピラミッド型モデルの交互浸漬前後 (スケールバー: 500  $\mu\text{m}$ ) .

### 【社会的な背景】

超高齢社会を迎えた昨今、骨疾患は増加しており、治療のためのより優れた骨置換材の開発が求められています。また、白血病などの血液疾患の治療法として造血幹細胞移植が挙げられますが、ドナー不足や移植後の拒絶反応など、治療に課題が残っています。造血幹細胞の培養・増殖には種々のサイトカインなどが必要であり、実験室レベルでの造血幹細胞の安定的かつ効率的な培養・増殖には制限があります。生体内では造血幹細胞が未分化な状態で安定的に維持されているということから、我々は骨の組成および形態的な模倣がこれまでにない充実した骨モデル構築につながると考えています。レーザー3D プリンティングで生体内の骨に見られる微細構造を構築し、無機複合化することによって骨のような無機物の生体界面を作り出すことで、生体内の環境を模倣した骨モデルの開発が期待できます。

### 【今後の展開】

本研究では、レーザー3D プリンティング技術と無機複合法を組み合わせることで有機物と無機物が複合化した 3 次元骨モデルを構築する手法の開発に成功しました。今回の手法を用いて、今後さらに高精細な有機-無機複合 3 次元モデルを造形し、骨の内部に見られる微細構造を再現した骨モデルの開発を行い、人工骨髄や骨置換材など再生医療研究に貢献する 3 次元骨モデルの構築を目指します。

**【掲載論文】**

“Microfabrication of Gelatin Methacrylate/Hydroxyapatite Composites by Utilizing Alternate Soaking Process”

Hiroki Miyajima, Kaori Kojima, Hiroki Touji, Kodai Onodera, Masaru Mukai, Shoji Maruo, Kazutoshi Iijima

ACS Biomaterials Science & Engineering, DOI: 10.1021/acsbiomaterials.3c01046

**【本研究への支援】**

本研究は JST 戦略的創造研究推進事業 CREST（課題番号 JPMJCR1905）による支援を受けて行われました。

本件に関するお問い合わせ先

横浜国立大学 大学院工学研究院

先端科学高等研究院 飯島 一智 Tel: 045-339-3997

e-mail: iijima-kazutoshi-mh@ynu.ac.jp