

エレクトロスピニングによる三次元構造形成技術の開発

生活資材開発課 丹保浩行、吉田 巧、横山義之

1. 緒言

バイオ医薬品や再生医療に関する培養技術の進歩に伴い、血管等の中空構造を有する臓器を模倣した高度な三次元細胞培養基材が求められている。不織布などのファイバー膜の培養基材は、細胞の成長に必要な培地や酸素が循環しやすい多孔質構造であり、ファイバー表面積が大きいことから大量に細胞を培養することが可能である。

近年、袋状の嚢胞を模倣した三次元ファイバー構造体がエレクトロスピニング(電界紡糸)を用いて作製されたり。それによると、アルギン酸ハイドロゲル上にファイバー膜を形成し、ゲルを除去することにより、中空の三次元ファイバー構造体が作製されている。また、3D プリンターは複雑形状の鋳型を設計可能なことから、多様なゲル成形用型を転写することができるようになり、臓器を模倣した中空の三次元ファイバー構造体の培養基材への応用が期待されている。

ポリアクリロニトリル(PAN)は酵素濃縮などのろ過膜として、PAN 系炭素繊維はゴルフシャフトやテニスラケットなどスポーツ用品の弾性材料として使用されている。PAN 系炭素繊維は、前駆体繊維を 200~300°C で耐炭化²⁾、高温で炭素化する工程を経て作製されている。PAN は耐炭化により直鎖構造から架橋し環状構造へ変化することが知られている。二次元平面にエレクトロスピニングで形成される不織布状 PAN ナノファイバーは白色で、耐炭化ナノファイバーは茶色になることが報告されている³⁾。

本研究では、中空構造で弾性を有する PAN 三次元ファイバー構造体の形成を目的として、①ナイロン型によるアルギン酸ハイドロゲルの成形、②エレクトロスピニングによる PAN 三次元ファイバー構造体の形成、③PAN 三次元ファイバー構造体の耐炭化について検討した。

2. 実験方法

ナイロン型は、カラー内壁にメッシュクロス置き、ワッシャーで蓋をする筒状構造とした(図 1)。カラー内側の寸法は、直径 10 mm、長さ 28 mm とし

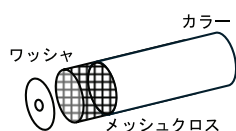


図 1 ナイロン型

た。アルギン酸ナトリウム(富士フイルム和光純薬(株))と塩化カルシウム二水和物(富士フイルム和光純薬(株))を純水で溶解し、それぞれ 5 wt%、10 wt% に調製した。ナイロン型の中心に直径 3 mm のステンレス鋼棒を通し、内側

にアルギン酸ナトリウム水溶液を充填した。このセットを塩化カルシウム水溶液に 1 晩浸漬し、型を取り外すことにより、アルギン酸ハイドロゲルを成形した。

PAN (Mw 150,000、Sigma-Aldrich)を N,N-ジメチルホルムアミド(富士フイルム和光純薬(株))に溶解させ、10wt% の紡糸溶液とした。ナノファイバー電界紡糸装置(株式会社、NANON-05)を使用し、印加電圧 18.0 kV、ノズル-マンドレルコレクタ距離 13 cm、アルギン酸ハイドロゲルを備えたステンレス鋼棒をマンドレルコレクタとして 300 rpm で回転、ノズルは水平に移動させて紡糸し、PAN 三次元ファイバー構造体を形成した。次いで、マッフル炉を用いて 200°C で 2 h 加熱し、耐炭化 PAN 三次元ファイバー構造体を形成した。

0.5 M エチレンジアミン四酢酸(EDTA)溶液(pH 8.0、(株)ニッポンジーン)を純水で希釈して 0.05 M とし、耐炭化 PAN 三次元ファイバー構造体とともに容器に入れて密栓、ミックスローター上で容器を回転させることで、カルシウムイオンをキレート化し、アルギン酸ナトリウムを除去、中空の耐炭化 PAN 三次元ファイバー構造体を作製した。

3. 実験結果および考察

3.1 アルギン酸ハイドロゲルの形成

図 2 にナイロン型を用いて成形したアルギン酸ハイドロゲルを示す。ステンレス鋼棒を覆うようにして円柱状ゲルが成形されていることが分かった。ゲルの中心は、左右端の付近よりも滑らかな曲面であり、透明性が高いことが分かった。

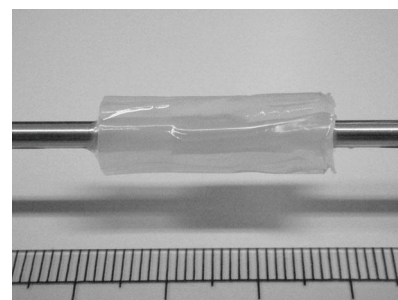


図 2 アルギン酸ハイドロゲル

ナイロンは吸水性が高く水中で膨張する特徴を有するため、この型の隙間は水溶液中で小さくなる。塩化カルシウム水溶液は、ステンレス鋼棒とこの型の左右端の狭い隙間から、この型内部に流れ込む。メッシュクロスを通して端から、アルギン酸ハイドロゲルが形成されていくため、架橋度の勾配が生じ、ゲルの中心と左右端では性状がやや異なっていると考えられる。表面から架橋して凝固したゲルは、カプセル状であり、アルギン酸ナトリウム水溶液を包み込む役割を果たしている。

3.2 PAN 三次元ファイバー構造体の形成

エレクトロスピンニングを用いてゲル上に形成した PAN 三次元構造体は白色を示した。PAN 三次元構造体の共焦点レーザー顕微鏡画像を図 3 に示す。ゲルを備えたマンドレルを回転させて形成した PAN は、ファイバー径が約 $1\mu\text{m}$ であり、不織布状となることが観察された。三次元イメージング解析でも、ファイバーは積層しており、ファイバー間の空隙は広いことが分かった。

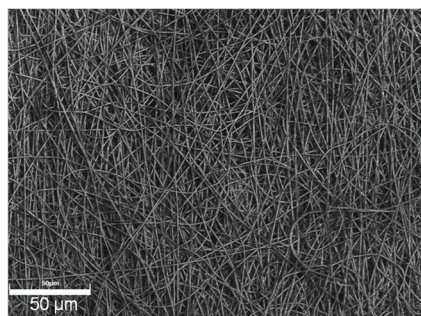


図 3 PAN 三次元ファイバー構造体表面の画像

3.3 耐炎化 PAN 三次元ファイバー中空構造体の形成

耐炎化処理をした PAN ファイバー三次元構造体は茶色を示した。図 4 にゲル除去処理後の耐炎化 PAN 三次元構造体を示す。200℃ で加熱することにより、柔らかい PAN ファイバーで紡糸された三次元構造体は収縮し、EDTA 水溶液に浸漬することにより、耐炎化 PAN 三次元構造体内のゲルが除去され、弾力性を有する PAN 三次元中空構造体になることが分かった。



図 4 耐炎化 PAN 三次元中空構造体

アルギン酸は、 Na^+ とは水溶性の塩を形成するが、 Ca^{2+}

によってカルボキシル基(COO^-)同士がイオン架橋され不溶性の塩となる⁴⁾。架橋度が上がるとゲルとなり、耐熱性を有するとされている。ゲルの耐熱性が向上したことにより、PAN 三次元構造体に中空構造を形成することができたと考えられる。

耐炎化処理した PAN 三次元構造体の共焦点レーザー顕微鏡画像を図 5 に示す。加熱前よりもファイバーの径は小さくなり、凝集していることが分かった。ファイバーが小さくなったのは、加熱により分子の再配列が生じたためと考えられる。

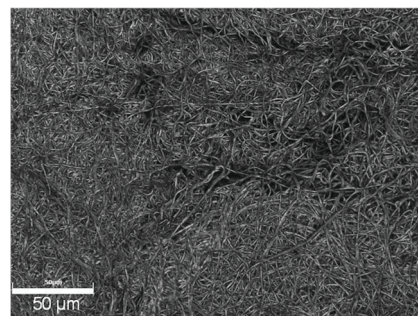


図 5 耐炎化 PAN 三次元中空構造体表面の画像

4. 結言

ナイロンを型としてアルギン酸ハイドロゲルを成形し、エレクトロスピンニング装置を用いてゲル上に PAN を紡糸することで、三次元ファイバー構造体を形成した。加熱処理後、三次元構造体内のアルギン酸塩を除去し、中空構造体を作製した。得られた中空の耐炎化 PAN 三次元ファイバー構造体は、弾力を有していることが分かった。

参考文献

- 1)Huang W.Y. *et al.*: *Polymers*, **13** (2021) 2273
- 2)麻生 他: 炭素, **227** (2007) 115
- 3)加藤 他: 炭素, **282** (2018) 55
- 4)並木: 月刊フードケミカル, **9** (2021) 113

キーワード：エレクトロスピンニング、PAN、中空構造、弾力、三次元ファイバー構造体

Development of Three-Dimensional Structure Formation Technology Using Electrosinping

Life Materials Development Section; Hiroyuki TAMBO, Takumi YOSHIDA and Yoshiyuki YOKOYAMA

Preparation of three-dimensional fibrous structure has been investigated to apply for culture substrate. Alginate sodium solution was introduced into a nylon-mold, along with a stainless steel rod running through the center of the mold. Then, this setup was submerged in calcium chloride solution. An alginate hydrogel was constructed by removing the mold. Polyacrylonitrile (PAN) solution was electrosun at 18.0 kV on the gel. The three-dimensional PAN fibrous structure was heated at 200℃ using a muffle furnace, and then the heated fibrous structure was treated with EDTA to remove the alginate. It was found that the hollow three-dimensional heated PAN has a resilient fibrous structure.