

氏 名	もう けつ MENG JIE
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1 0 6 9 号
学位授与の日付	令和 4 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 バイオベースマテリアル学専攻
学 位 論 文 題 目	Design and Fabrication of Poly(L-lactic acid) Scaffold via Melt Electrowriting for Bone Regeneration Application (メルトエレクトロライティングによる骨再生用ポリ(L-乳酸)スキャホールドのデザインおよび調製)
審 査 委 員	(主査)教授 櫻井伸一 准教授 木梨憲司 教授 佐々木園 准教授 石井佑弥

論文内容の要旨

本学位論文では、溶融電界書込み (Melt Electrowriting ; MEW) 法によって作製された造形物を骨再生のためのスキャホールド (細胞の足場) として使用するための方策が論じられている。骨再生のための組織工学は、損傷を受けた骨の置き換えや再生を誘導するための有望な戦術であり、また、MEW 法は高分解能の電気力学効果によって誘導された積層造形物の製造方法であり、3次元プリンターが進化した技術とも位置づけされる。この方法により、マイクロメートルの精度で制御された秩序造形物の作製が可能である。シリンジ型の容器中で原料ポリマーを数 10 分間程度加熱する必要があるため、原料ポリマーは低い融点を持つものに限定されているのが現状であった。それゆえ、熱分解しやすいようなポリマーであるポリ L 乳酸は、現在の MEW 装置を用いた加工には適さない。しかしながら、ポリ L 乳酸は代表的なバイオベースポリマーであり、生体吸収性、生体適合性、加水分解性を有しているため、MEW 法によって高精度なマイクロメートル程度の繊維状のポリ L 乳酸から成るスキャホールドが作製できれば、骨再生のための組織工学において、非常に重要な役割を果たすことが期待される。そこで本学位論文では、当該学位申請者が所属している研究室で開発された手製の MEW 装置を用いて、ポリ L 乳酸のスキャホールドを作製する手法を検討し、実際に作製に成功した。さらに、作製できた複合材料スキャホールド (ヒドロゲルとバイオガラス粒子との複合) を用いて、タンパク質吸着性の向上の検討を行うとともに、骨の主要組織であるヒドロキシアパタイト形成効率を向上させる手法の開発にも取り組んだ。

本学位論文は全 3 章から構成されている。まず第 1 章では、MEW 法の操作条件(印加電圧、掃引速度、吐出速度)を系統的に検討し、熱分解しやすいポリ L 乳酸のスキャホールド製造を可能にした。さらに、骨再生のための細胞工学に適した、繊維フィラメントの直径の制御とスキャホールド壁面の多孔化とその孔径制御が可能となり、骨芽細胞 KUSA-A1 増殖のための最適値 (繊維フィラメントの直径 40 μ m、孔径 200 μ m) を見出した。

第2章では、MEW 法によって作製されたポリ L 乳酸スキャホールドの低い細胞親和性の向上と低い生体活性の向上が検討された。これらの主な原因は、ポリ L 乳酸の表面が疎水的であることと、繊維フィラメントの表面が極端に平滑であることである。これらの主要因を改善するために、スキャホールドのアルカリ処理を試みた。その結果、力学物性の低下や繊維フィラメントの断裂、孔の閉塞を起こすことなく、繊維フィラメントの平滑な表面を粗くすることに成功した。さらに、繊維フィラメントの引張弾性率の向上（未処理材料に比して約2倍に向上）と結晶化度の増加も見られた。0.5M 水酸化ナトリウム処理を2時間行うという条件が、骨芽細胞 KUSA-A1 増殖に最適であり、骨形成誘導機能が発現した（幼年期の骨組織形成量が3倍になったことを確認した）。

第3章では、MEW 法によって作製されたポリ L 乳酸スキャホールドの脆さの改善とさらなる生体活性の向上が検討された。この目的のために生体を模倣した強化コンポジットを、ポリ L 乳酸にゼラチン／ゲニピン／バイオガラスから成るヒドロゲルを複合化させることによって作製した。バイオガラス1%を含ませるだけで、繊維フィラメントの融着によるスキャホールドの連続性が達成され、その脆弱性は飛躍的に改善された。さらに、このスキャホールドの使用によって、骨形成誘導機能の向上と骨の組織形成量の向上が認められるとともに、骨組織にとって最も重要な因子であるカルシウム／リンの組成比 1.69 が達成された。このカルシウム／リンの組成比は元々の骨組織の値(1.67)に非常に近く、このことは、本手法で作製されたコンポジット型ポリ L 乳酸スキャホールドの骨再生医療分野における優位性を明確に示すものである。

以上、述べたように、本学位論文で示された結果は、ポリ L 乳酸スキャホールドの作製にあたって、MEW 法が大変有効であり、開発・改良された MEW 装置の重要性が示された。さらに、装置の操作条件の最適化が図られたこととともに、作製後のスキャホールドの後処理（アルカリ処理）、バイオガラスを含んだヒドロゲルとの複合化によって作製されたコンポジット型のポリ L 乳酸スキャホールドが、力学的な強度に優れるとともに、骨組織形成能も優れていることが示された。このように、本学位論文は、第1章から第3章に至る過程で段階的に検討が進められ、最終結論へと導かれている内容となっている。

論文審査の結果の要旨

本学位論文で示された結果は、ポリ L 乳酸スキャホールドの作製にあたって、MEW 法が大変有効であり、開発・改良された MEW 装置の重要性が示された。さらに、装置の操作条件の最適化が図られたこととともに、作製後のスキャホールドの後処理（アルカリ処理）、バイオガラスを含んだヒドロゲルとの複合化によって作製されたコンポジット型のポリ L 乳酸スキャホールドが、力学的な強度に優れるとともに、骨組織形成能も優れていることが示された。このように、本学位論文は、第1章から第3章に至る過程で段階的に検討が進められ、最終結論へと導かれている内容となっている。この内容は学術的にも工学的にも非常に価値が高いと認められた。したがって、本学位論文は博士論文として十分な水準を満たしていると判定された。

本論文の基礎となった学術論文 3 編を以下に示す。すべてレフェリー制度の確立した国際的に著名な学術誌に掲載されており、いずれも申請者が筆頭著者である。

1. Jie Meng, Francesco Boschetto, Shinichi Yagi, Elia Marin, Tetsuya Adachi, Xuefei Chen, Giuseppe Pezzotti, Shinichi Sakurai, Hideki Yamane, Huaizhong Xu, “Design and manufacturing of 3D high-precision micro-fibrous poly (l-lactic acid) scaffold using melt electrowriting technique for bone tissue engineering”, *Materials & Design* 210, 110063 (2021).
2. Jie Meng, Francesco Boschetto, Shinichi Yagi, Elia Marin, Tetsuya Adachi, Xuefei Chen, Giuseppe Pezzotti, Shinichi Sakurai, Sono Sasaki, Takashi Aoki, Hideki Yamane, Huaizhong Xu, “Enhancing the bioactivity of melt electrowritten PLLA scaffold by convenient, green, and effective hydrophilic surface modification”, *Biomaterials Advances*, 135, 112686 (2022).
3. Jie Meng, Francesco Boschetto, Shinichi Yagi, Elia Marin, Tetsuya Adachi, Xuefei Chen, Giuseppe Pezzotti, Shinichi Sakurai, Hideki Yamane, Huaizhong Xu, “Melt-Electrowritten Poly(L-lactic acid)- and Bioglass-Reinforced biomimetic hydrogel for bone regeneration”, *Materials & Design*, 219, 110781 (2022).