

同 志 社 大 学

2015 年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2016年 3月14日提出

| 所 属 | 職 名 | 氏 名 |
|------------------|--|-------|
| 生命医科学部 | 教授 | 片山 傳生 |
| 研 究 題 目 | エレクトロスピンニング法による組織再生用ポリ乳酸ポーラスナノファイバー足場の開発 | |
| 研 究 成 果 の 概 要 | <p>培養軟骨内への栄養供給を促進し細胞活性を維持するため、ポーラスファイバースキャホールドをエレクトロスピンニング法により開発した。</p> <p>PLLA と Polyethylene oxide (PEO) の混合物を 1,3-dioxolane に溶解させ、6 w/v% および PLLA/PEO 比率 90/10 の PLLA/PEO 溶液を準備した。エレクトロスピンニングユニットを用いて PLLA/PEO 溶液を紡糸し、多孔質ファイバースキャホールドを作製した。コントロールとして中実ファイバースキャホールドを準備した。作製したファイバーの形態および断面は、SEM を用いて観察した。直径 6 mm に加工した各スキャホールドに酸素プラズマによって親水化処理を施した。3 枚重ねたファイバースキャホールドにブタ軟骨細胞/コラーゲン Type I 懸濁液を滴下し、細胞密度 5.0×10^6 cells/ml となるように培養軟骨を作製した。培養軟骨を 28 日間培養した後、細胞の生死判別および細胞外基質産生量の定量的評価を行った。また、多孔質構造を有するファイバーの栄養供給能を評価するため、アガロースゲルに包埋したそれぞれのファイバースキャホールドへの蛍光試薬の浸透を 1 時間観察した。</p> <p>SEM 観察より、多孔質ファイバースキャホールドの繊維径は $5.50 \pm 0.67 \mu\text{m}$ であり、多孔質ファイバーの断面観察において繊維内部まで細孔が形成されていることが確認された。MPM 観察による細胞の生死判別より、いずれのスキャホールドにおいても表面付近に生細胞および死細胞が観察され、両ファイバースキャホールドにおける死細胞の割合はほぼ同じであった。中実ファイバースキャホールドにおいては表層だけでなく全層にわたって死細胞が観察された。一方、多孔質ファイバースキャホールドにおいても中心部において死細胞が観察されるものの、その数は中実ファイバースキャホールドの場合の値と比べ少なかった。GAG 量の測定結果より、多孔質ファイバースキャホールドの場合の GAG 量は中実ファイバースキャホールドの場合の値と比較して高い値となった。多孔質ファイバーにおける溶液拡散の観察では、観察開始直後に網目状の蛍光像が観察され、その後は観察時間に伴いアガロースゲル全体の蛍光輝度が上昇した。一方で、中実ファイバースキャホールドでは、ファイバーの蛍光像が観察されず、多孔質ファイバースキャホールドにおいて内部の細孔を透過して溶液がゲル全体にまで拡散することが示された。これらより、多孔質ファイバースキャホールドを通して培養組織内部への培養液の供給が維持されることで細胞活性が維持され、その結果として多孔質ファイバースキャホールドを用いた培養軟骨内に産生された細胞外基質量が高くなることが示された。</p> <p>本成果は、日本機械学会 第 28 回バイオエンジニアリング講演会、The 2nd International Conference on Biological Engineering and Natural Sciences にて発表した。</p> | |