

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	医工学科	森田 有亮
研 究 題 目	組織再生のための細胞封入ファイバースキャホールドの創製技術の開発	
研 究 成 果 の 概 要	<p>軟骨細胞を封入したファイバーを集積させることにより、軟骨細胞の均一な分布と一様な再生組織の形成を促すため、軟骨細胞混合アルギン酸ファイバーシートの紡糸技術の開発を行った。</p> <p>ブタ大腿骨より単離した軟骨細胞を混合した Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) にアルギン酸ナトリウム (SA) を溶解させ、1.0 w/v%の SA 溶液を作製した。細胞密度は、1.50×10^6、1.75×10^6 および 2.00×10^6 cells/ml とした。アルギン酸ファイバーの作製のために、自作の紡糸装置を作製した。装置は SA 溶液を押し出すシリンジ、SA 溶液を固化させるための CaCl_2 溶液バスおよび巻取りドラムで構成されている。SA 溶液の押し出しにはシリンジポンプを使用した。シリンジの先端には、ガラス管を引き延ばして作製したマイクロニードルを装着した。シリンジを用いて SA 溶液を $10 \text{ mm}^3/\text{s}$ の流量で 1.2 w/v% CaCl_2 溶液内に押し出すことで、アルギン酸ファイバーを作製した。各細胞密度に対して巻取り速度を 60, 80, 100 および 120 mm/s、トラバース速度を 20, 40, 60 および 80 mm/s とし、ファイバー径および細胞間距離の制御を試みた。ファイバーの形状を位相差顕微鏡を用いて観察し、画像解析によりファイバー径および細胞間距離を求めた。また、作製したファイバーシート内に存在する細胞の分布と細胞の生死を評価するため、蛍光顕微鏡観察を行った。</p> <p>開発した紡糸装置を用いて細胞を封入したアルギン酸ファイバーによるシート状スキャホールドが作製可能であった。トラバース速度と巻取り速度を調整することにより、ファイバー径は 78.2 から 103.8 μm の範囲で、ファイバーのピッチは 5.1 から 21.4mm の範囲で調整が可能であった。また、細胞密度を調整することにより細胞間距離は 28.8 から 66.3 μm の範囲で調整が可能であった。巻取り速度 120 mm/s においては、破断によりファイバーは巻取れなかった。軟骨の階層構造を模擬するように、巻取り速度とトラバース速度を途中で変更することで、異なるファイバー密度を有する 2 層構造のスキャホールドを作製した。位相差顕微鏡により上下層でファイバー密度が異なる様子が観察された。多光子励起顕微鏡により細胞の分布を観察した結果、高密度層では低密度層の約 1.5 倍の細胞が観察され、紡糸条件を調整することで異なる細胞密度を有する 2 層構造のスキャホールドが作製できることが示された。また、スキャホールド内に存在する生細胞の割合は 88.5% であり、軟骨細胞混合アルギン酸ファイバースキャホールドにおいて紡糸過程では細胞死が引き起こされないことが示された。</p> <p>本成果は、6th International Conference on Mechanics of Biomaterials and Tissues にて発表された。</p>	