

Electrospinning 法による繊維性 scaffold の新規配向制御技術の開発

Development of novel method to control orientation of fibrous scaffold with Electrospinning

○ 橋浦匠 (TDU) 和田知明 (TDU) 野口展士 (TDU) 野中一洋 (TDU) 幡多徳彦 (FRDC)

矢口俊之 (UNIST) 大越 隆文 (TCGH) 福井 康裕 (TDU) 舟久保 昭夫 (TDU)

Takumi HASHIURA, Tokyo Denki University(TDU) Tomoaki WADA, TDU

Hiroo NOGUCHI, TDU Kazuhiro NONAKA, TDU Norihiko HATA, Frontier Research and Development Center

Toshiyuki YAGUCHI, Ulsan National Institute of Science and Technology

Takafumi OHKOSHI, Tsudanuma Central General Hospital Yasuhiro FUKUI, TDU Akio FUNAKUBO, TDU

Key Words: Electrospinning, Fibrous Scaffold, Novel Method, Control Orientation

1. 研究背景

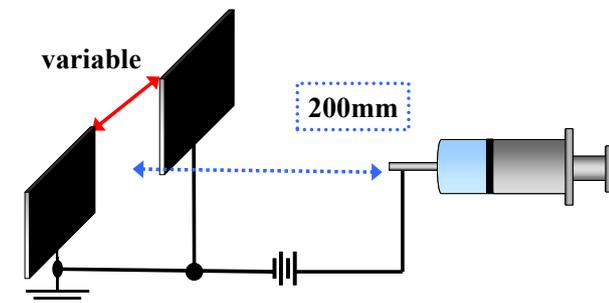
Electrospinning 法 (以下 ES 法) により作製した繊維性 scaffold の細胞培養基材としての基礎評価として、scaffold の繊維直径と細胞集団内の個別細胞の移動速度に関する研究を行ってきた。これまでの培養系における個別細胞の細胞移動速度については、ガラス面と scaffold の2つの基材の影響を受けており、scaffold 上のみにおける細胞移動速度を測定すること、またこのときの scaffold は配向制御がなされておらず、scaffold の幾何構造と細胞挙動の関係性については検討がなされていなかった。これらを加味し、繊維配向を制御した scaffold 構造における細胞挙動の観察および解析を目的とした。

2. 繊維性 scaffold の作製

2-1. ES 法の原理

ES 法は μm オーダーの微細繊維を高い再現性をもって作製できる方法であり、電極間におよそ1万Vの高電圧を印加し、発生した静電引力中に高分子溶液を滴下することで繊維を紡糸する方法である。

2-2. 新たに開発した ES 法



Distance of electrode [mm]	200
Negative electrode size [mm]	Steel, 100×100×0.5
Collector size [mm]	Glass, 25×25×1
Time of scaffold deposition [min]	10

Fig. 1 Schematic of novel ES system and Parameter

従来の electrospinning 法と異なる点は陰極を二つに分けて並列したこと、・陰極と scaffold 構築面が一体だったものを、Fig. 1 のように分けたことの二点である。表は固定したパラメータである。本研究では図のように、並列した陰極間の間隔を変数とし、そのときの繊維配向角度を測定した。

2-2. 結果

作製した繊維性 scaffold を CDD カメラ付設の光学顕微

鏡を用いて画像撮影した。水平方向を基線とし、垂直方向を -90° から 90° とした範囲で scaffold の配向角度を測定した。結果を Fig. 2 に示す。

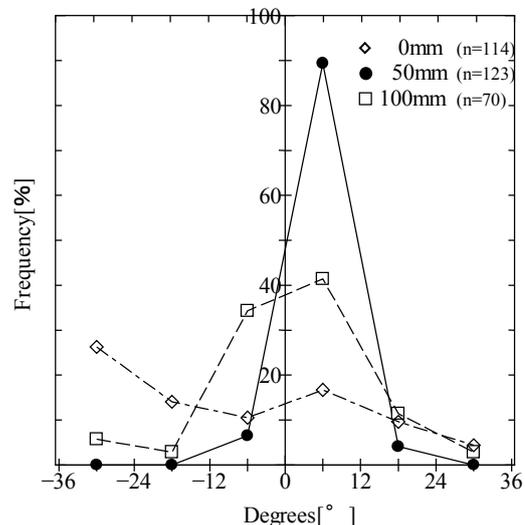


Fig. 2 Frequency of orientational degrees with fibrous scaffold

この結果から陰極間距離と scaffold の配向性に関して、陰極間距離 50 mm のとき、scaffold 配向角が $\pm 6^\circ$ 以内の頻度はおよそ 90%を示し、均一な配向を有した scaffold の作製が可能であると確認された。

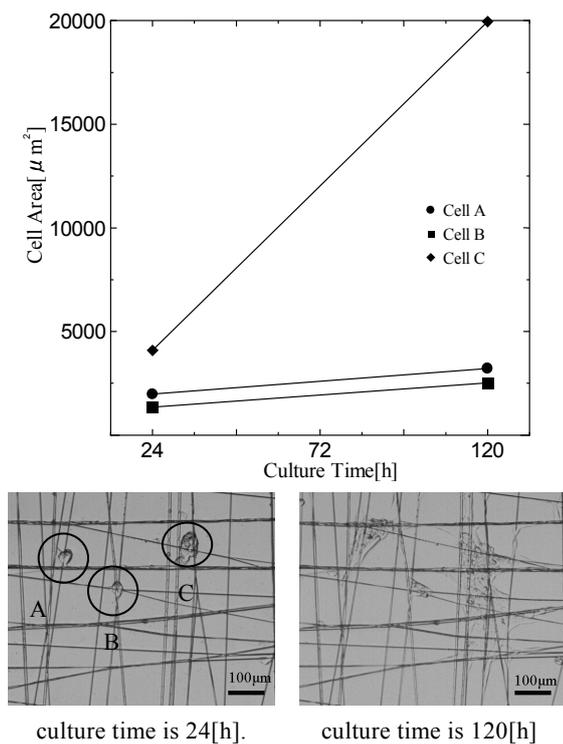
3. 培養実験

この結果をもとに格子状 scaffold を作製し、細胞への物理的接触が scaffold のみという状況において、scaffold の幾何構造が細胞増殖に与える影響を検討した。

3-1. 培養条件

外径 20 mm、内径 16 mm のガラス製リング状に格子状 scaffold を堆積させ、12 well 組織培養用プレートの各 well 内に入れた。well 内に培地を添加し、scaffold を浸潤させた状態でマウス繊維芽細胞 NIH3T3 を接種し培養した。この培養系において繊維性 scaffold と周辺の同種細胞とのみ接触をしている繊維芽細胞の細胞挙動を、リアルタイム細胞培養観察システムを用いて経時的に観察した。

3-2.結果および考察



culture time is 24[h].

culture time is 120[h]

Fig. 3 Variation of cell area on oriented scaffold.

細胞接種 24 時間後と 120 時間後における細胞の面積を比較した結果を Fig. 3 に示す。この結果から細胞伸展面積は培養初期における面積に比例していることを確認した。また、Cell A および B と C の面積変化を比較すると、伸展面積の増加が著しく異なることが確認された。このことから、細胞面積増加率は初期細胞面積に依存し、面積増加が著しくなる初期細胞面積の閾値が存在することが示唆された。