

C204

静電紡糸シリカ不織布の骨細胞培養担体への応用

(福岡工技セ) ○ (学) 山口哲*・(九大院工) (正) 境慎司
(日本バイリーン) 渡邊理恵・多羅尾隆・川部雅章・(九大院工) (正) 川上幸衛

【緒言】

近年、簡便にナノレベルの繊維を作製可能な静電紡糸法が注目されており、その応用性に関する様々な研究が行われている。我々はゾル-ゲル法を応用して作製されるシリカの高い生体適合性に着目し、静電紡糸法とゾル-ゲル法を組み合わせたシリカからなる静電紡糸不織布(Silicate nonwoven fabrics; SNF)を用いた細胞培養担体の開発を行っている。静電紡糸不織布は極細繊維の集合体であるため、高い表面積ならびに空隙率を有するという特徴がある。本報告では、静電紡糸シリカ不織布の表面積効果を検証するため、各濃度でカルシウムイオンを付与したシリカ不織布上で骨芽細胞 MG63 を培養し、その分化能への影響を調べた。

【実験方法】

1) SNF ならびに Ca 添加 SNF の作製

テトラエトキシシラン (TEOS)、エタノール、精製水、塩化水素をそれぞれ 1:2:2:0.01 のモル比にて混合して得られるゾルに、12 kV の電圧を印加させることで直径約 500 nm の SNF を作製した(Fig. 1a)。作製した SNF を 0.1 M、0.3 M、0.5 M の各濃度の CaCl₂ エタノール溶液に浸漬し、Ca イオンを付与した。Ca イオンを付与した SNF の Cl₂ を除去するため、各 SNF に 500 °C で 3 h の熱処理を施した。添加した Ca 濃度については、XPS を用いて分析した。

2) 骨芽細胞を用いた評価

作製した SNF を 1cm×1cm に細切後、滅菌処理を施した。これら SNF 上に骨芽細胞 MG63 を 2×10⁵ cells/cm² の濃度で播種し、21 日間培養した。培養期間における MG63 細胞の細胞増殖能、ならびに成熟骨への分化の指標となる ALP(アルカリフォスファターゼ)活性の経時的变化を評価の指標として用いた。また、比較として Ca 未添加 SNF を用いた。

【結果および考察】

1) Ca 添加 SNF

SNF を CaCl₂ 溶液に浸漬し、500 °C で 3 時間の焼成処理を加えても、SNF の形態に変化は見られなかった(Fig. 1a,b)。XPS 分析の結果、0.1 M、0.3 M および 0.5 M の各 CaCl₂ 溶液に浸漬した SNF の Ca/Si 比は、各々、0.48、0.38 および 1.19 であった。この結果から、CaCl₂ 溶液に浸漬し焼成処理を施すことで、SNF に Ca イオンを添加することができた。

2) MG63 細胞の分化能への影響

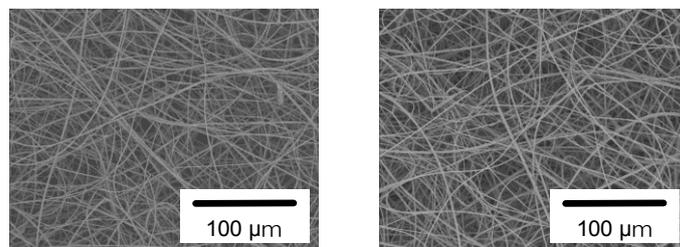
Ca イオンを添加した SNF を用いて MG63 細胞を培養したところ、Ca 未添加を含む全ての SNF 上で MG63 細胞は増殖した。Ca を添加した SNF 群の細胞増殖能は、Ca 未添加 SNF と比較すると、培養 10 日目ならびに培養 14 日目では約 80 %低い値を示した。

また、Ca 添加濃度を変化させても、細胞増殖能には大きな影響を与えなかった(Fig. 3a)。

培養 7 日目の単位細胞数当たりの ALP 活性については、未添加 SNF と比較すると、0.1 M、0.3 M の Ca 添加 SNF は約 1.5 倍、0.5 M では約 1.3 倍高い ALP 活性を示した。これらの結果から、Ca イオンを添加した SNF は、MG63 細胞の分化能を向上させることが可能であることがわかった。

【結言】

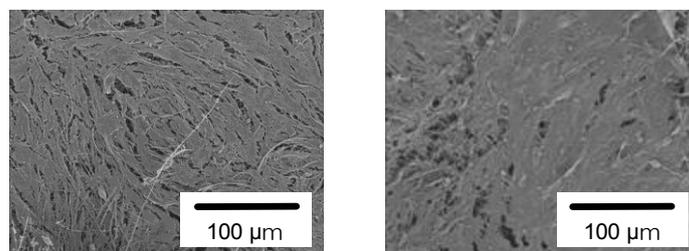
本検討の結果、静電紡糸不織布の特徴である高い表面積を利用した、高機能性不織布開発への応用可能性が示唆された。現在、更なる高機能化の検討を行っている。



(a) SNF

(b) 0.3 M CaCl₂ 添加 SNF

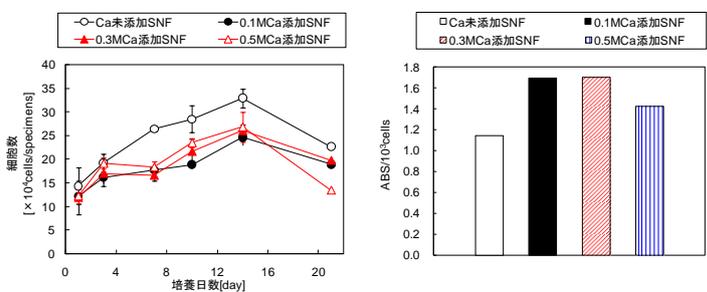
Fig.1 本培養系における細胞培養担体



(a) SNF

(b) 0.3 M CaCl₂ 添加 SNF

Fig.2 SNF 上の MG63 細胞(培養 21 日目)



(a) 各 SNF 上の細胞数の推移

(b) 単位細胞当たりの ALP 活性(培養 7 日目)

Fig.3 細胞数変化および ALP 活性の比較

*TEL : 0942-30-6644 FAX : 0942-30-7244

E-mail: tetsu@fitc.pref.fukuoka.jp