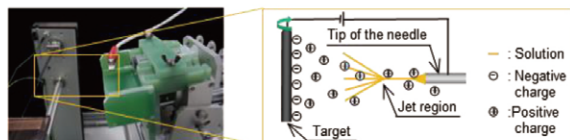


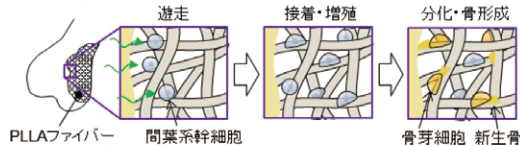
骨再生用多孔質ポリ乳酸(PLLA)ファイバースキャホールドの開発

■ 骨環境を模倣するマイクロファイバーの開発

○ エレクトロスピニング法



○ 骨再生用マイクロファイバースキャホールド



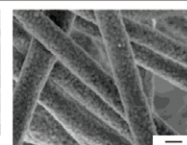
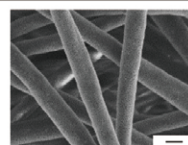
アパタイト析出 ⇒ リン酸カルシウム(DCPA)粒子添加
早期の均質化 ⇒ 多孔質化による比表面増大

■ 擬似体液への浸漬によるアパタイト形成評価

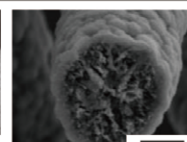
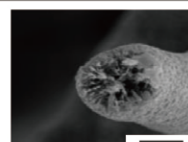
開発した多孔質
PLLA/DCPAファイバー

擬似体液
浸漬7日後

表面
SEM
(Bar: 10 μ m)



断面
SEM
(Bar: 5 μ m)



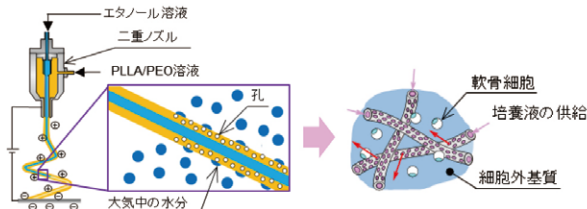
ファイバー表面への早期かつ均質なアパタイトの析出を実現

PLLAファイバー表面へのアパタイト形成誘起による骨環境模倣

軟骨再生用多孔質中空ナノファイバースキャホールドの開発

■ PLLAナノファイバーの多孔質・中空化技術の開発

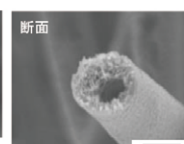
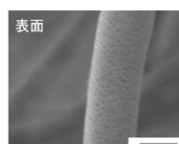
○ 二重ノズルを用いたエレクトロスピニング



PEO添加による多孔質化／二重ノズルによる中空化

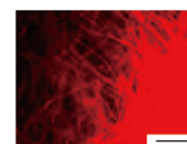
■ 多孔質中空PLLAファイバースキャホールドの評価

○ SEM観察



(Bar: 5 μ m)

○ 蛍光観察



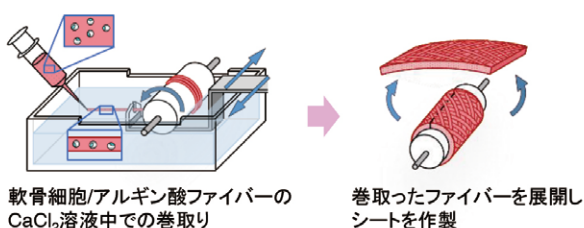
(Bar: 100 μ m)

ナノファイバーの多孔質中空化を実現
蛍光試薬の浸透から栄養供給路の確保を確認

多孔質中空ファイバーを介する栄養供給による細胞活性維持

軟骨細胞/アルギン酸ファイバーによる再生軟骨の開発

■ 軟骨細胞/アルギン酸ファイバーの紡糸技術の開発

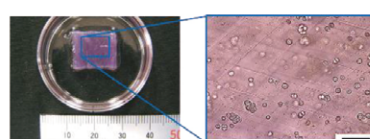


軟骨細胞/アルギン酸ファイバーの
CaCl₂溶液中での巻取り

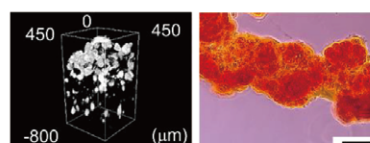
巻取ったファイバーを展開し
シートを作製

セルフファイバーによる細胞の均一分布
網目構造による栄養供給の維持

■ 3次元網目構造体の評価



網目構造と軟骨細胞
の均一分布を確認

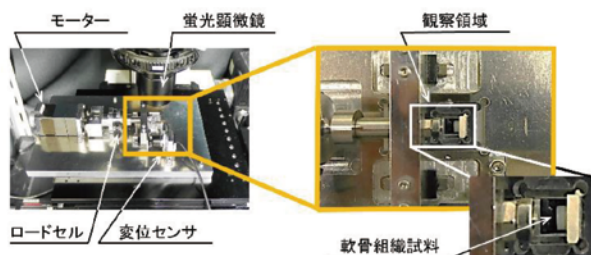


左: MPM観察
コラーゲン構造の確認

右: サフラニンO染色
細胞外基質産生の確認

均質かつ旺盛な細胞外基質の産生を確認

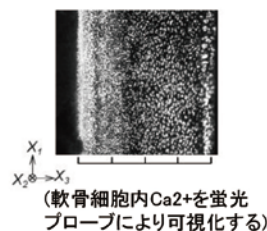
大サイズの欠損へ適用可能な均質かつ成熟度の高い再生軟骨の作製

軟骨内細胞の Ca^{2+} イメージングによる刺激伝播の解析■ 圧縮負荷時の細胞内 Ca^{2+} イメージング装置の開発

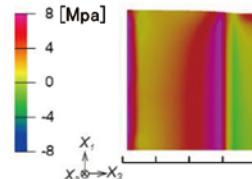
蛍光顕微鏡上で組織を圧縮しながら細胞内 Ca^{2+} イメージングを行い、力や変形の情報を取得する。

■ Ca^{2+} イメージと力学シミュレーションによる因子推定

○ 実験結果



○ 力学シミュレーション結果

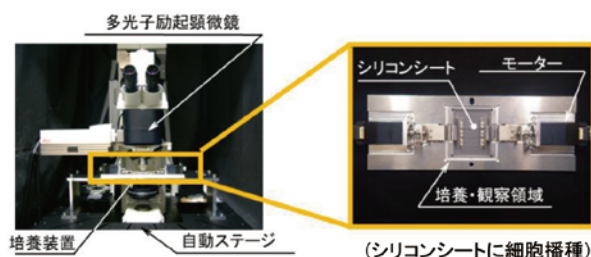


Ca^{2+} 輝度パターンと組織の力・変形に関する計算結果から、刺激の伝播と力学因子の関係を探索する。

力学負荷による関節疾患発症のメカニズムに関する知見を得る

力学刺激に伴うコラーゲン凝集体の形成過程評価

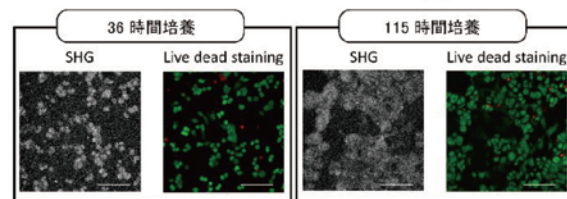
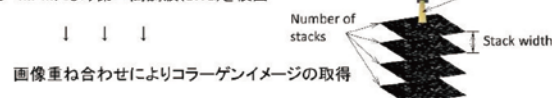
■ 引張負荷培養下コラーゲンイメージング装置の開発



多光子励起顕微鏡(MPM)を用いて引張負荷培養時のコラーゲン線維・凝集体イメージを取得する。

■ コラーゲン凝集過程の画像解析

○ MPMにより第二高調波(SHG)を検出

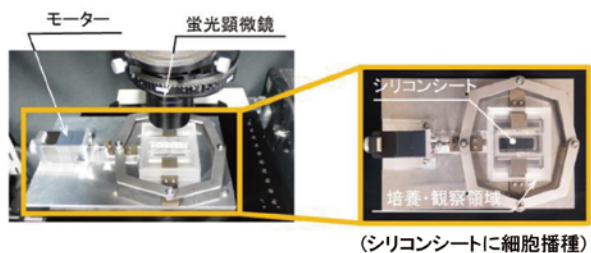


刺激に伴うコラーゲン線維・凝集体の構造変化から、力学刺激と基質構造構築の関係を探索する。

軟骨基質の構造構築に影響を及ぼす力学刺激に関する知見を得る

力学刺激下遺伝子発現イメージングによる最適刺激の探索

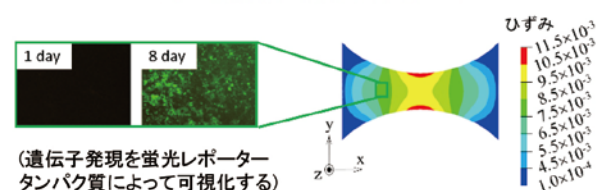
■ 引張負荷培養下遺伝子発現イメージング装置の開発



蛍光顕微鏡を用いて引張負荷培養時の軟骨基質に関する遺伝子発現をイメージングする。

■ 力学場と蛍光輝度(遺伝子発現)分布の比較

○ シリコンシートのひずみ場解析結果と遺伝子発現画像のマッピング



力学場の計算結果と遺伝子の発現状態を画像によって比較し、最適刺激を探索する。

遺伝子発現のモニタリングによる軟骨再生の最適力学条件に関する知見を得る