

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาโครงร่างรูพรุนสามมิติ จากโปรตีนไหมไฟโบรอิน สำหรับการนำไปใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน โดยเตรียมโครงร่างรูพรุนสามมิติด้วยเทคนิค freeze drying จำนวน 2 ชนิดคือ fibroin scaffold (SF) และ fibroin/collagen scaffold (SF/C) จากนั้นศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโครงร่างรูพรุนสามมิติ ได้แก่ รูปร่างลักษณะ ขนาดรูพรุน ความเป็นรูพรุน ความสามารถในการดูดซับน้ำ ความแข็งแรง และความสามารถในการย่อยสลายได้ในร่างกาย พบว่า โครงร่างรูพรุนสามมิติที่เตรียมได้มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ มีความเป็นรูพรุนสูง และมีรูพรุนภายในโครงร่างที่เชื่อมติดกัน (interconnected pore) รูพรุนมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 65-145 ไมครอน โครงร่างรูพรุนสามมิติ ที่เตรียมจาก SF พบว่าเมื่อปริมาณ SF เพิ่มขึ้น โครงร่างรูพรุนสามมิติที่เตรียมได้ จะมีขนาดเฉลี่ยรูพรุนเล็กลง แต่ความเป็นรูพรุนเพิ่มมากขึ้น และมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง SF และ SF/C พบว่า SF/C มีความแข็งแรงมากกว่า SF นอกจากนี้ยังพบว่า โครงร่างรูพรุนสามมิติที่ผ่านการแช่ใน methanol จะทนต่อน้ำ และมีความแข็งแรงมากกว่า โครงร่างรูพรุนสามมิติที่ไม่ได้ผ่านการแช่ใน methanol เนื่องจาก methanol ทำให้โครงสร้างของไฟโบรอิน เปลี่ยนจาก random coil เป็น β -sheet โครงร่างรูพรุนสามมิติทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี โดยพบว่ามีค่าการดูดซับน้ำสูงถึงร้อยละ 90 และพบว่าสามารถควบคุมอัตราเร็วในการสลายตัวของโครงร่างรูพรุนสามมิติได้โดยการควบคุมปริมาณของไฟโบรอิน ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโครงร่างรูพรุนสามมิติที่เตรียมขึ้นไปใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน ได้ทดลองโดยการแยกเซลล์ chondrocyte จากหนูขาวและนำไปเลี้ยงในโครงร่างรูพรุนสามมิติที่เตรียมจาก SF และ SF/C จากนั้นศึกษาความสามารถในการเกาะติด การเจริญเติบโต รูปร่างของเซลล์ และการสร้าง extracellular matrix (ECM) ด้วยวิธี MTT assay กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องกราด และ immunohistochemistry ผลการศึกษาพบว่า chondrocyte ที่เลี้ยงใน SF/C สามารถเกาะติดได้ดี เจริญเติบโต และสร้าง ECM ได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงใน SF โดย chondrocyte ที่พบที่ผิวหน้าโครงร่างรูพรุนสามมิติมีรูปร่างคล้ายเซลล์ไฟโบรบลาส (รูปร่างแบน) ส่วน chondrocyte ที่พบที่ภายในโครงร่างรูพรุนมีลักษณะ chondrocyte (รูปร่างกลม) และพบว่าโครงร่างรูพรุนสามมิติทั้ง 2 ชนิดมีความปลอดภัยต่อเซลล์ ดังนั้น โครงร่างรูพรุนสามมิติที่พัฒนาขึ้นจึงมีแนวโน้มสูงที่จะใช้เป็นวัสดุสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน

This study aimed to construct 3-dimensional scaffold from silk fibroin and investigated the feasibility of prepared scaffolds for cartilage tissue engineering application. Three dimensional scaffolds were prepared from silk fibroin (SF) and silk fibroin blended with collagen (SF/C) by a freeze drying technique. Physico-chemical characterization of these scaffolds including morphologies, pore size, porosities, structures, water absorption capacities, mechanical properties and degradation behaviors were studied. The morphology of prepared scaffolds had sponge forms and exhibited highly porosity with interconnected pores. Average pore sizes of these scaffolds were ranging from 65-145 μm . The scaffold prepared with higher amount of SF and SF/C showed more porosity and higher compressive modulus. Structural analysis indicated that scaffolds with methanol treatment became more water-stable and stronger than those without methanol treatment as a result from silk fibroin conformational change from random coil to β -sheet. All of scaffolds had capable of water absorption about 90% and degradation behavior of these scaffolds can be operated by controlling amount of fibroin. To investigate the feasibility of the scaffolds for tissue engineering application, articular chondrocytes isolated from rat and were seeded onto SF and SF/C scaffolds. Cell attachment, proliferation, morphological changes and extracellular matrix (ECM) synthesis were studied by MTT assay, scanning electron microscopy and immunohistochemistry. The results indicated that both scaffolds were biocompatible. Nevertheless, chondrocytes cultivated in the SF/C scaffold showed higher cell attachment, proliferation, and synthesis of ECM than those cultivated in the SF scaffolds. Chondrocyte morphology on the scaffold surface showed a fibroblast-like cell (flat shape), while chondrocyte growth deeper in the construct showed a chondrocyte-like morphology (round shape). Thus, the developed SF/C scaffold showed high potential as a desirable biomaterial for cartilage tissue engineering