ELECTROSPUN POLYCAPROLACTONE FIBERS FOR BONE SCAFFOLDING APPLICATION

Ms. Patcharaporn Wutticharoenmongkol

A Dissertation Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
and Case Western Reserve University
2007

Thesis Title:	Electrospun Polycaprolactone Fibers for Bone Scaffolding Application
By:	Patcharaporn Wutticharoenmongkol
Program:	Polymer Science
Thesis Advisor:	Assoc. Prof. Pitt Supaphol

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy.

Nantaya Yanumet ..... College Director

(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

Thesis Committee:

Nantaya Yanumet .....
(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

..... (Assoc. Prof. Pitt Supaphol)

Ratana Rujiravanit .....
(Assoc. Prof. Ratana Rujiravanit)

Prasit Pavasant .....
(Assoc. Prof. Prasit Pavasant)

Neeracha Sanchavanakit .....
(Asst. Prof. Neeracha Sanchavanakit)

C. Meechaisue .....
(Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue)

ABSTRACT

4682001063: Polymer Science Program
Patcharaporn Wutticharoenmongkol: Electrospun Polycaprolactone Fibers for Bone Scaffolding Application.
Thesis Advisor: Assoc. Prof. Pitt Supaphol, 165 pp.
Keywords: Electrospinning/ Polycaprolactone/ Hydroxyapatite/ Scaffold/ Osteoblast

Electrospun (e-spun) fiber mats of polycaprolactone (PCL; M_n = 80,000) with or without calcium carbonate ($CaCO_3$) or hydroxyapatite (HAp) nanoparticles (i.e. E-PCL, E-PCL/$CaCO_3$, and E-PCL/HAp) were successfully fabricated. Indirect cytotoxicity evaluation of these e-spun mats revealed that these mats posed no threats to the cells. The potential use of the e-spun fiber mats as bone scaffolds was evaluated *in vitro* with human osteosarcoma cells (SaOS2) and mouse calvaria-derived, pre-osteoblastic cells (MC3T3-E1). For SaOS2 cells, E-PCL, E-PCL/$CaCO_3$, and E-PCL/HAp were evaluated in terms of attachment, proliferation, and alkaline phosphatase (ALP) activity of the cells that were cultured on the scaffolds. The results were compared with those on corresponding solution-cast film scaffolds and tissue-culture polystyrene plate (TCPS). All of the e-spun fiber mats promoted much better adhesion and proliferation of cells than the corresponding film scaffolds and TCPS. E-PCL/HAp (1.0% w/v HAp) showed the highest ALP activity. For MC3T3-E1 cells, E-PCL and E-PCL/HAp were evaluated in terms of attachment, proliferation, differentiation, and mineralization of the cells that were cultured on the scaffolds. The results were compared with those of TCPS. The greater expression for both the osteocalcin (OC) gene and the OC protein on days 14 and 21, respectively, of MC3T3-E1 after being cultured on E-PCL/HAp than that on E-PCL and TCPS was apparent, as this leads to the greatest amount of mineralization observed on day 21 for the cells grown on E-PCL/HAp, followed by that for the cells grown on E-PCL and TCPS, respectively.

บทคัดย่อ

พัชราภรณ์ วุฒิเจริญมงคล : เส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนจากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเพื่อใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับกระดูก (Electrospun Polycaprolactone Fibers for Bone Scaffolding Application) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. พิชญ์ ศุภผล 165 หน้า

แผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน (น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวน 80,000 กรัม/โมล) แผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงแคลเซียมคาร์บอเนตขนาดนาโน และแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงไฮดรอกซีแอปาไทต์ขนาดนาโน (E-PCL, E-PCL/$CaCO_3$ และ E-PCL/HAp) สามารถเตรียมได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธีอ้อม พบว่าแผ่นเส้นใยทุกชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และได้ศึกษาคุณสมบัติในการใช้เป็นวัสดุโครงสร้างสำหรับกระดูกในสภาวะนอกร่างกาย ด้วยเซลล์สร้างกระดูกชนิด SaOS2 และ MC3T3-E1 ในกรณีของเซลล์สร้างกระดูก SaOS2 ได้ทำการศึกษาการยึดเกาะ การเจริญเติบโต และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสแอคติวิตีของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยทุกชนิด เปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มจากกระบวนการหล่อที่มีส่วนประกอบเหมือนกันกับแผ่นเส้นใยและจานเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCPS) พบว่าเซลล์ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนแผ่นเส้นใยทุกชนิดได้ดีกว่าบนแผ่นฟิล์มและจานเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน นอกจากนี้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงไฮดรอกซีแอปาไทต์ (ไฮดรอกซีแอปาไทต์ 1% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ให้ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสแอคติวิตีมากที่สุด ส่วนในกรณีของเซลล์สร้างกระดูก MC3T3-E1 ได้ทำการศึกษาการยึดเกาะ การเจริญเติบโต การแปรสภาพ และการพอกแร่ธาตุของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน และแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงไฮดรอกซีแอปาไทต์ เปรียบเทียบกับจานเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน พบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงไฮดรอกซีแอปาไทต์ สร้างยีนออสติโอแคลซินที่วันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง และสร้างโปรตีนออสติโอแคลซินที่วันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ได้มากกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนและจานเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน ซึ่งทำให้พบว่ามีปริมาณการพอกแร่ธาตุมากที่สุดบนแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่เติมผงไฮดรอกซีแอปาไทต์ รองลงมาคือแผ่นเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน และจานเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีนตามลำดับ

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to express her sincere gratefulness to her advisor, Assoc. Prof. Pitt Supaphol, for his guidance, useful advices, kind and constructive criticism, inspiration and great encouragement throughout this thesis.

The author would like to give her thankfulness to Assoc. Prof. Nantaya Yanumet, Assoc. Prof. Prasit Pavasant, Asst. Prof. Neeracha Sanchavanakit, Asst. Prof. Ratana Rujiravanit, and Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue, for being as her thesis committees and giving her the useful comments and suggestions. Highly gratitude goes to Assoc. Prof. Prasit Pavasant and Assoc. Prof. Mansur Ahmad for their kindness in giving her valuable theoretical and technical knowledge in cell culture and providing her the instruments and the convenient laboratory room.

The author would like to acknowledge partial support received from the Petroleum and Petrochemical College; the National Excellent Center for Petroleum, Petrochemicals, and Advanced Materials, Thailand; the National Research Council of Thailand; Chulalongkorn University (through invention and research grants from the Ratchadapesek Somphot Endowment Fund); a doctoral scholarship received from the Development and Promotion of Science and Technology Talents Project, the Institute for the Promotion of Teaching Science and Technology; and doctoral scholarship received from Polymer Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University.

The author would like to thank the PPC where the author have gained the precious knowledge in the Polymer Science program and the author greatly appreciates all faculty and staff members who have tendered knowledge and favourableness for her. The author also appreciates for the support and suggestions from all of her friends at the PPC and at Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University.

Last and most of all, the author would like to express her deep grateful to her parents, brothers and sisters for their love, caring and supporting her at all times.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER PAGE

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

CHAPTER V

FIGURE **PAGE**

CHAPTER VI

FIGURE **PAGE**

CHAPTER VIII