

創傷被覆材への応用を指向したシルクフィブロインへの 機能性ペプチド固定化

(奈良女大・生環) ○橋本朋子、中村優佳、佐野奈緒子、
(国循セ研) 山岡哲二、(農研機構) 亀田恒徳、
(信州大・繊維) 玉田靖、(奈良女大・生環) 黒子弘道

【緒言】高級衣料用材料として古くから利用されているシルクフィブロインは優れた生体親和性、また適度な強度を有する天然由来の高分子材料であり、外科用縫合糸としても長い実績をもつ。近年では、有用なバイオマテリアルとして広く研究されている。われわれは、シルクフィブロインの創傷被覆材としての応用を目指し、機能性ペプチドの固定化等の検討を進めている。本研究では、細胞接着、また創傷治癒や組織再生に寄与することが知られている RGD ペプチドをフィブロインへ固定化することにより、創傷被覆材として応用可能な機能性フィブロインの創出を目的とする。

【実験】既報に従い調製したシルクフィブロイン水溶液を基材に滴下し室温または 50℃で乾燥させ得たフィルムに、80%メタノール水溶液処理を組み合わせ、フィルムを得た。乾燥温度 (RT、50)、およびメタノール処理の有無 (Me、Non) の組み合わせより、得られたフィルムを RT/Non、RT/Me、50/Non、50/Me と表記する。Attenuated Total Reflection (ATR) 法による FTIR スペクトル測定、または顕微ラマンスペクトル測定により、シルクフィブロインフィルム表面近傍のタンパク質二次構造含有率、またフィルム表面における構造の分布について調べた。蛍光ラベル化したペプチド ($(\text{GAGAGS})_n\text{GRGDS}$ 、および GRGDS) 溶液を用いてフィブロインフィルムへの固定化を行い、それぞれペプチド固定化量を算出した。またペプチドとフィブロインフィルム間の相互作用を DSC 測定により評価した。さらにマウス繊維芽細胞 (NIH/3T3) を用いて、各フィルム上での細胞挙動を調べた。

【結果と考察】図 1 にアルコールとしてメタノールを用い作製したフィルムの ATR-FTIR 測定による構造解析結果を示す。得られた結果より、乾燥温度やアルコール処理の有無によって異なる二次構造含有率を有するフィルムの作製が確認できた。同様の蛍光が顕微ラマン測定においても得られた。以下の評価には、 β シート含有率に差がある RT/Non と 50/Me を用いた。ペプチドの 50/Me フィルムへの固定化では、GRGDS に比べ、GAGAGSGRGDS がより多くフィブロインフィルム上へ固定化される結果が得られた。この固定化評価、およびフィブロインとペプチド間の相互作用解析より、GAGAGS 配列を有するペプチドは、 β シート構造含有率が高いフィルムにより多く固定化される結果が得られ、またその固定化にはフィブロインとペプチドの間の相互作用が寄与していることが示唆された。ペプチド固定化フィルムの生理活性評価として、NIH3T3の初期接着性試験を行った結果、ペプチド固定化量の多いフィルム上で細胞の伸展が顕著に観察され、フィルムに固定化された RGD ペプチドの細胞への寄与が示唆された。

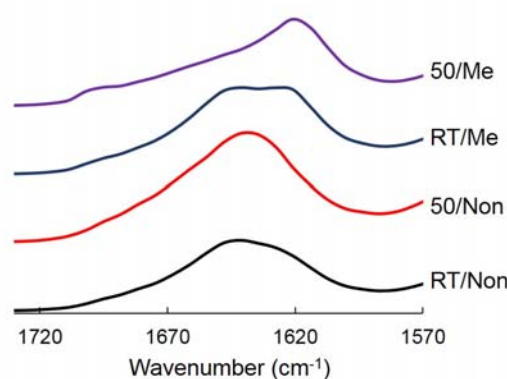


Fig.1 Amide I region in ATR-FTIR spectra of silk fibroin films

Peptide-functionalized silk fibroin-based biomaterials for skin wound healing

Tomoko HASHIMOTO¹, Yuka NAKAMURA¹, Naoko SANO¹, Tetsuji YAMAOKA², Tsunenori KAMEDA³, Yasushi TAMADA⁴, Hiromichi KUROSU¹

¹Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's University, Kitaouya-Nishimachi, Nara 630-8506, Japan, ²National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka 565-8565, Japan, ³National Agriculture and Food Research Organization, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan, ⁴Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan

Tel & Fax: +81-742-203462, E-mail:hashitomo@cc.nara-wu.ac.jp