

2P267 グルコノ- δ -ラクトンを用いたシルクフィブロイン水溶液のゲル化挙動

(信大・繊維) ○片桐杏菜、青木正朗、玉田靖

研究背景・目的

生体安全性の高いシルクフィブロインを再生医療における細胞足場材料として用いる研究が進められている。われわれは欠損した患部に注射によって足場となる材料を注入し組織再生の足場を構築し低侵襲治療を可能とするインジェクタブル材料に注目した。インジェクタブル材料としては注射により注入できる流動性を持った材料が、何らかの刺激によりゲル化や繊維化することにより細胞足場材料を構築できる性質が必要である。シルクフィブロインを用いたインジェクタブル材料を開発する研究も報告されており、例えば、シルクフィブロインとポリエチレングリコールを混合したインジェクション可能なゲルが報告されている。本研究ではインジェクタブルシルクフィブロイン材料の開発を目的に、豆腐やヨーグルトの凝固剤として用いられているグルコノ- δ -ラクトン (GDL) をゲル化剤として使用しシルクフィブロイン水溶液のゲル化挙動について検討した。

実験方法

シルクフィブロイン水溶液は、絹糸から常法に従い調製した。シルクフィブロイン水溶液の濃度や GDL 水溶液の濃度を変化させることによるゲル化挙動の変化を観察した。ゲル化の評価はゲル化時間を指標として行い、シルクフィブロイン/GDL 溶液のゲル化による濁度の変化を追跡し吸光度が一定になった時間をゲル化時間として定義した。形成されたゲルについては SEM 観察により構造を評価し、圧縮試験により弾性率等の力学的物性を評価した。また、GDL の生体安全性評価のために、NIH3T3 細胞による細胞毒性アッセイを行い、陰性コントロールと陽性コントロールとして PBS とヒドロキシウレアをそれぞれ用いて、シルクフィブロイン/GDL 溶液の細胞毒性を評価した。

結果・考察

GDL は水溶液中で分解しグルコン酸に変化する。そこで GDL を ROW に溶解した際の pH 変化を測定したところ、溶解後 5 分までに pH が急激に下がりその後は一定であった。一方、シルクフィブロイン水溶液に GDL を添加した場合の pH 変化は ROW の時と比べて緩やかであった。これはシルクフィブロインによる緩衝作用に依るものと推察している。緩やかな pH の低下により、シルクフィブロイン水溶液のゲル化時間の制御が可能であると思われる。シルクフィブロイン濃度と GDL 濃度のゲル化時間への影響を調べると、シルクフィブロイン濃度が高いほど、また GDL 濃度が低いほどゲル化時間が短いことが分かり、シルクフィブロインと GDL の混合比の変化によりゲル化時間制御の可能性が示唆された。形成されたゲルの強度を圧縮試験で調べると、シルクフィブロイン濃度が高い程圧縮弾性率が高くより硬いゲルが形成される結果が得られ、足場材料としての弾性率の制御も可能であることが示唆された。細胞毒性アッセイの結果は、GDL の細胞増殖性が陰性コントロールの細胞増殖性に対して有意な差を示さなかったことから GDL には細胞毒性がないと判断できる。以上の結果から、シルクフィブロイン/GDL 溶液はシルクフィブロイン濃度や GDL 濃度によってゲル化時間やゲルの硬さが制御できる可能性が示唆され、インジェクタブルゲルのための有用な材料であると期待できる。

1) X. Wang, B. Partlow, J. Liu, Z. Zheng, B. Su, Y. Wang, D. L. Kaplan: Injectable silk-polyethylene glycol hydrogels. *Acta Biomaterialia*. Vol.12 (2015) 51-61.

Gelation behavior of silk fibroin aqueous solution using glucono- δ -lactone, Anna KATAGIRI, Masaaki AOKI, Yasushi TAMADA: Graduate School of Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan, Tel: 0268-21-5359, E-mail: ytamada@shinshu-u.ac.jp