

## 調製法が異なるシルクフィブロイン基材上での P19CL6細胞の自発拍動挙動

(信州大・繊維) ○川久保彩夏、小橋尚教、玉田靖、  
(国循セ) 山岡哲二、(物材機構) 小林尚俊

### 【緒言】

シルクはフィブロインとセリシンという2種類のタンパク質からなる天然繊維であり、フィブロインはその優れた生体安全性やスポンジやナノファイバーなど様々な形状に加工できることから再生医療での足場材料としての利用が期待されている。

われわれは、ウサギ関節軟骨再生においてフィブロインスポンジが良好な軟骨組織再生を促すことや、フィブロイン材料上で培養した細胞が組織形成へ誘導されることを見出した。しかし、シルクの組織再生細胞支持体としての有効性が示されているものの、その機能発現のメカニズムは分かっていない。一方、フィブロイン基材上で培養された細胞は、細胞分化や組織再生の方向に誘導される可能性が示唆されており、フィブロイン基材による細胞の分化誘導効果が他の細胞系においても起こりうるのかどうかの確認は、フィブロイン基材の組織再生用足場材料としての特異性や特徴を明確にするためには重要である。心筋細胞への分化とそれに伴う自発拍動が報告されているP19CL6細胞をフィブロイン基材で培養したところ自発拍動が早期に生じることを見出した。本研究ではフィブロイン基材の機能性発現メカニズム解明のために、フィブロイン基材調製法を変化させることによるP19CL6細胞の自発拍動挙動の相違を検討した。

### 【実験】

フィブロイン基材は、常法により調製したフィブロイン水溶液および凍結乾燥したフィブロインをHFIPで調整したフィブロインHFIP溶液を培養シャーレにコーティングした後80%メタノールによる不溶化処理を行い作製した。P19CL6細胞(RCB2318:P19.CL6、理研BRC)をDMSO含有培地中で培養し心筋への分化を拍動コロニー数の計測および心筋関連遺伝子の発現量で評価した。水またはHFIPの調製による基材の物性変化をFT-IR、水接触角、AFMで評価した。

### 【結果】

水溶液から調製したフィブロイン基材(W-SF)とHFIP溶液から作製したフィブロイン基材(HFIP-SF)では自発拍動挙動に相違が観察された。W-SFでは自発拍動が培養10日目から観察され14日までにその数が急激に増加したのに対し、HFIP-SFにおいては10日目に拍動コロニーが観察されたものの拍動コロニー数の増加は緩やかであった。数の増加は水溶媒のフィブロインで早期に始まり、コロニー数の増加も顕著に高かった。また、拍動範囲もW-SF上ではHFIP-SF上に比較して広範囲に観察され、さらに心筋分化マーカー遺伝子や心筋マーカー遺伝子の発現量もW-SF上で培養した細胞では有意に高かった。基材物性評価から、HFIP-SFはW-SFに比較して $\beta$ シート含量が高く、水接触角が大きく、また表面の凹凸が小さいことが観察された。W-SFとHFIP-SFでのP19CL6細胞の自発拍動挙動の違いは、調製法の違いによる表面物性の変化が影響している可能性が示唆された。