

皮膚組織再生のための機能性シルクナノファイバー集合体の開発

材料技術課 寺田堂彦 生活工学研究所 金丸亮二

1. 緒言

褥瘡や火傷などによる皮膚組織の深層欠損を治療するためには、代替表皮層を作るだけではなく、死滅した厚い皮膚組織を再生しなければならない。しかしながら、深くえぐられた組織を再生するためには、細胞の足場に適した材料で欠損空間を満たし、組織再生に伴って速やかに消失する材料が必要となる。一方、近年、再生医療用材料としてのシルクの可能性について種々の報告がなされている。シルクは手術用縫合糸として古くからの実績があり、その分解物も含めて生体に毒性がなく、強度や加工性に優れた理想的な医療材料用素材であるといえる。本研究では、再生型創傷被覆剤の開発を目的として、シルクナノファイバーからなるスポンジ状の嵩高い繊維集合体の開発を目的として研究を行った。

2. 実験方法

2.1 使用材料

シルク精練糸を臭化リチウムに溶解して透析し、シルク水溶液としたものを、信州大学 玉田教授よりご提供いただいた。ポリエチレンオキシド (PEO, $M_w=900000$ g/mol)、2-methyl-2-propanol、ethanol は和光純薬工業株式会社製のものを使用した。 α -Chymotrypsin (α -CHM)、protease type XIV (ProXIV) は Sigma Aldrich 社製のものを使用した。

2.2 試料作製

シルク水溶液 (8%) と、PEO 水溶液 (5%) との混合溶液 (体積比 4 対 1) を紡糸溶液として、自作のエレクト



Fig. 2 A spongy aggregate of electrospun silk nanofibers.

ロスピング装置での紡糸実験に供した¹⁾。9.0 kV の電圧を印加したシリンジニードル (22G) から紡糸溶液を 0.65 ml/h で吐出し、ニードル先端から 70 mm の位置に設置した 2-methyl-2-propanol 液面をコレクターとして繊維を捕集した²⁾。紡糸環境を温度 33~35 °C、相対湿度<10 %に維持して紡糸実験を行った (Fig.1)。所定の紡糸時間が経過した後、繊維を含有した 2-methyl-2-propanol を冷凍庫内で凍結し、減圧乾燥して得られた繊維を各測定に供した。得られた試料に対して乾熱処理 (180 °C, 2 h) もしくはエタノール処理 (70~90%, 25 °C, 24 h) を行った。

2.3 試験および測定方法

繊維の形態観察は、電界放出型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM, JSM7001FTTSL, JEOL) により行った。赤外分光分析は DuraScope を備えた FT/IR-680plus (Jasco) により行った。既報では、結晶化処理に用いるエタノール水溶液の濃度が、シルク繊維の表面性状に影響を及ぼすことを報告した。本報では、エタノール濃度が酵素分解性に及ぼす影響について調査するため、 α -Chymotrypsin 水溶液 (0.4 u/ml /PBS)、protease type XIV 水溶液 (0.35 u/ml /PBS) に浸漬して 37 °C で緩やかに振盪し、1、2 週間後の乾燥質量を測定した。

3. 実験結果および考察

作製したシルクナノファイバー集合体の外観を Fig.2 に示す。一般的に用いられる平板コレクターで作製したシルクナノファイバー不織布とは異なり、嵩高いスポンジ状の集合体であることがわかる。as-spun 繊維と乾熱処理繊維の FE-SEM 観察像を Fig.3 に示す。as-spun 繊維には粒子、ビーズ、分岐などの紡糸欠陥は認められず、比較的均一な繊維が得られていることがわかる。as-spun 繊維は水溶性であったが、乾熱処理によって不溶化すること

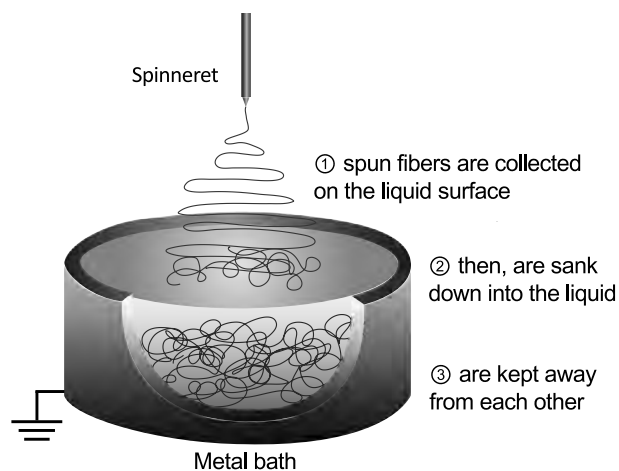


Fig. 1 Schematic diagram of electrospinning system.

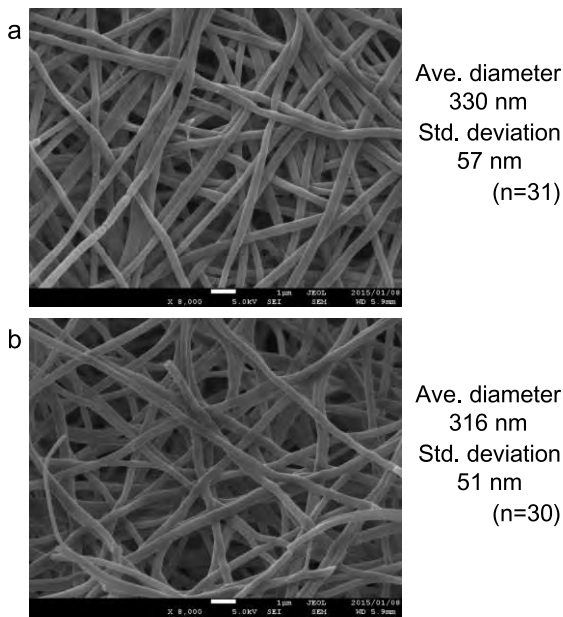


Fig.3 FE-SEM images of (a) as-spun fibers and (b) dry heat treated fibers.

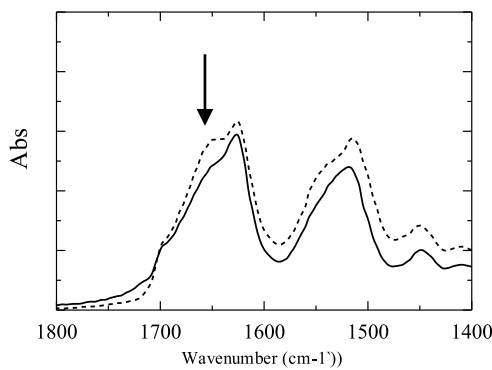


Fig.4 Infrared spectra of as-spun fiber (dashed line) and dry heat treated fiber (solid line).

を確認した。ただし、乾熱処理によって繊維径は若干減少し、かつ、所々に破断した末端が見られた。as-spun 繊維と乾熱処理繊維の赤外吸収スペクトルを Fig.4 に示す。乾熱処理によってアミド I バンドの高波数側ショルダーが消失しており、これにより乾熱処理による結晶化が確認された。

キーワード：シルク、エレクトロスピニング、スポンジ

Development of silk nanofiber aggregate for regenerative medicine of dermal tissues

Material Technology Section; Dohiko Terada Product Technology Section; Ryoji KANAMARU

A spongy aggregate of silk nanofibers was successfully developed by aqueous electrospinning. The nanofiber aggregate consists of amorphous silk fibroin and it means that by post treatments the enzymatic digestion rate can be changed.

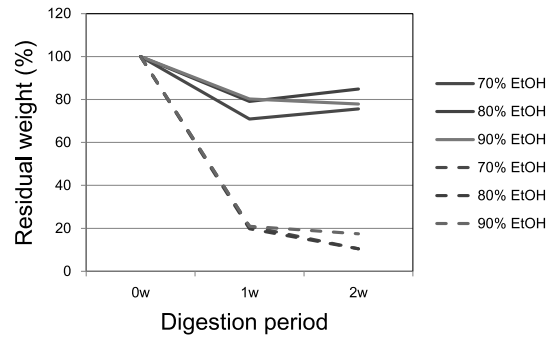


Fig.5 Changes in dry weight of e-spun fibers digested by α -Chymotrypsin (solid lines) and Protease type XIV (dashed lines). Fibers were treated previously by ethanol solutions (70, 80, and 90%).

酵素処理時間に伴う質量変化を Fig.5 に示す。 β 結晶ごと分解する ProXIV ではエタノール濃度による差異はほぼ認められなかった。一方、非晶領域から徐々に分解が進行する α -CHM では、エタノール濃度が低いほど、つまり、最表面構造がルーズであるほど分解が速かった。

4. 結言

水系エレクトロスピニング法により、シルクナノファイバーから成る疎なスポンジ状集合体を作製することができた。非晶状態で作製した試料に対する後処理条件を変えることによって、酵素分解速度が制御できる可能性を示唆する結果が得られた。

参考文献

- 1) H.J.Jin et al. *Biomacromolecules*, **3**(2002)1233-9.
- 2) H.Kobayashi, et al. *J.Biomed.Nanotech.*, **9**(2013)1318-1326.

謝辞

終わりに、本研究推進にあたりご協力を頂いた信州大学 玉田教授に深く感謝致します。