

機械解繊フィブロインナノファイバー基材での

細胞挙動の評価と応用の検討

(京工繊大院・工)○尼子翔大、Ai Ai Lian

(京工繊大・応用生物)小谷英治 (京工繊大・繊維)岡久陽子

【緒言】 絹の主成分であるフィブロインは機械的特性に優れ、生体適合性があり、細胞接着も良好であることから、近年は細胞足場材などへの応用が多く研究されている。岡久ら[1]が報告した方法ではフィブロイン繊維を湿式で機械的に処理することによりナノフィブリル化したフィブロインナノファイバー(FNF)を作成することができる。FNF は水に分散した状態で得られるため、様々な材料への加工が容易であり、水のみを用いるため環境にやさしい。しかし、新規材料である FNF の細胞毒性については未確認であった。そこで本研究では、FNF 基材を用いて細胞試験や湿潤状態での諸物性について報告し、FNF の生体材料への応用の可能性を検討する。

【実験】 フィブロイン原料（ながすな繭株式会社提供）を 90~100℃の 0.9 wt%Na₂CO₃ 水溶液中で 2 時間追加精練した後、水中に懸濁させ、石臼式グラインダー(スーパーマスコロイダー, 増幸産業(株))を用いて 1500rpm で 4 回処理することにより、FNF 水分散液を得た。得られた FNF 水分散液を用いてフィルムを作製した。また、細胞試験用のウェルプレートに 1.0wt%FNF 水分散液を 1mL 入れ室温で乾燥させた後、ヒト正常線維芽細胞(NHDF)を用いた培養試験を行った。対照として、60℃の 9.3M 臭化リチウム水溶液に追加精練済みのフィブロイン原料を溶解させた後、透析により塩を除去し濾過することで再生フィブロイン (RF) 水溶液を作製し、フィルム作製および細胞培養試験に供した。RF 水溶液は不溶化のため乾燥後、メタノールに浸漬した。得られたフィルムサンプルを用いて湿潤状態の諸物性について測定を行った。

【結果】 RF 基材は線維芽細胞の成長と増殖を促進し、増殖に必要なサイトカインの分泌を阻害しないことが知られている[2]。本実験でも RF 基材の細胞試験において生細胞数の増加が確認された。さらに、FNF 基材では RF 基材よりもさらに良好な増殖が確認された。過去の研究で、細胞外マトリックス(ECM)の硬さに影響して、細胞内の[Ca²⁺]濃度が増加し、細胞骨格や細胞増殖の形成を担う Rac1 を活性化させることが報告されている[3]。FNF 基材は RF 基材よりも”硬い”ため細胞増殖がさらに促進された可能性がある。湿潤状態でのフィルム諸物性の測定結果については当日報告する。

【参考文献】

- [1] Narita, Chieko, et al. "Characterization of ground silk fibroin through comparison of nanofibroin and higher order structures." *ACS omega* 5.36 (2020): 22786-22792.
- [2] Liu, Tie-lian, et al. "Cytocompatibility of regenerated silk fibroin film: a medical biomaterial applicable to wound healing." *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 11 (2010): 10-16. [3]
- [3] Price, Leo S., et al. "Calcium signaling regulates translocation and activation of Rac." *Journal of Biological Chemistry* 278.41 (2003): 39413-39421.

Evaluation of Cell Behavior on Mechanically Nanofibrillated Fibroin Substrates and Applications. Shota AMAKO¹, Ai Ai LIAN¹, Eiji KOTANI², Yoko OKAHISA³, ¹Graduate school of science and engineering, Kyoto Institute of Technology,²Faculty of Application of Biology, Kyoto Institute of Technology,³Faculty of Fiber Science and Engineering, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki Hashikamicho, Sakyo Ward, Kyoto, 606-8585, Japan, Tel: 075-724-7014, E-mail: m3661002@edu.kit.ac.jp