

皮膚疾患治療を目指した 野蚕シルクフィブロインの抗酸化作用解析

(農工大院・工¹、農工大院・農²) ○一戸峻佑¹、村上智亮²、秋岡翔太¹、中澤靖元¹

【緒言】

天然高分子である家蚕(*Bombyx mori*)シルクフィブロイン(BmSF)は、低炎症性や生体適合性などの特徴から生体材料を指向し研究されている。一方、野生種の蚕(*Antheraea pernyi*)の繭から抽出した SF(ApSF)は、一次構造中に BmSF には存在しない抗酸化作用を持つと言われる Trp を含む配列を持つとともに、細胞接着配列(RGD 配列)を有することから生体材料への応用が見込まれる。さらに、ApSF には抗酸化作用を有するポリフェノール的一种であるタンニンが含まれる。本研究では、ApSF のこれらの特徴を活かし、アトピー性皮膚炎(Atopic dermatitis, AD)治療材としての応用を目指した。AD は慢性炎症性皮膚疾患であり、皮膚のバリア機能障害によりアレルゲンに対する過剰な免疫応答、炎症反応が進行し、かゆみ等を発症する。現在の治療法は、ステロイドの塗布による過剰炎症の抑制となっているが、過度な使用は感染症や皮膚萎縮のリスクが伴うため、使用量低減が課題である。これに対し、ApSF の RGD 配列は AD 症状による擦過傷の止血や迅速な閉鎖を促し、皮膚バリア機能の維持、修復が可能になると考えた。さらに、一次構造中の Trp に加え、タンニンの抗酸化作用により炎症反応を誘導する活性酸素種(ROS)の除去が期待できる。そこで本研究では、Trp に着目し、ApSF の抗酸化作用機序を明らかにするとともに、Trp の抗酸化作用と ApSF の構造との相関を調査することを目的とした。本発表では、ApSF 水溶液のラジカル除去能を評価した結果について報告する。

【実験】

各 SF 水溶液は、精練後の ApSF、*A.yamamai* SF(AySF)繊維を 9.9 M チオシアン酸リチウム水溶液、BmSF 繊維を 9 M 臭化リチウム水溶液で溶解し、透析することにより調製した。得られた SF 水溶液の濃度を変え、2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル(DPPH)のラジカル除去率を測定することで抗酸化能を評価し、ApSF 水溶液、AySF 水溶液、2 回精練操作を行った ApSF 水溶液を比較した。試料名として、ApSF 水溶液は Ap、AySF 水溶液は Ay、2 回精練操作を行った ApSF 水溶液は Ap-2 と表記する。

【結果・考察】

SF 溶液のラジカル除去率を図 1 に示す。ApSF 水溶液のラジカル除去率は濃度増加に伴い向上し、1 w/v%で 50%の除去率を示した。この値は 1 w/v% BmSF 水溶液のラジカル除去率(約 10%)と比較して有意に高く、ApSF が BmSF より高い抗酸化能を有することを示した。さらに、同じ野生種の AySF は、濃度依存的な変化を示すが、ApSF と比較して低いラジカル除去率を持つことが示された。また、Ap-2 の結果より、ApSF は精練回数を増やすことで除去率の向上が確認された。この結果は、ApSF の一次構造中の Trp 残基がラジカル除去に寄与している可能性を示唆した。2 回精練により ApSF が加水分解され分子量が低下し、Trp 残基とラジカルの接触確率が向上したと考えられる。以上から ApSF の処理方法と抗酸化能に相関が見られ、加工方法の最適化によりさらに高いラジカル除去能を発現できることを示唆した。今後は、Trp のラジカル除去への寄与を詳細に解析するとともに、タンニンの影響も調査する。

また本発表では、各 SF 水溶液と ApSF モデルペプチドを用いた抗酸化アッセイ及び AD モデルマウスを用いた動物試験の結果と、BmSF ブレンドによる ApSF の構造と物性の変化についても報告する。

【謝辞】

本研究は、JST 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)産学協同(本格型)(課題番号 JPMJTR214A)、および東京農工大学融合研究支援制度『TAMAGO』により実施した。

Antioxidant Action Analysis of Silk Fibroin from Wild Silkworms for Treatment of Skin Diseases, Ryosuke ICHINOHE, Tomoaki MURAKAMI, Shota AKIOKA, and Yasumoto NAKAZAWA*:

¹Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology (TUAT),

²Graduate School of Agriculture, TUAT, *2-24-16 Naka-cho, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan,

*Tel: 042-388-7612, *E-mail: y-nakazawa@go.tuat.ac.jp

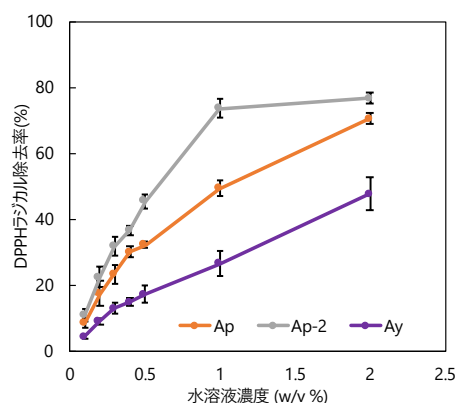


図 1 各 SF 水溶液のラジカル除去率比較