

異なるシルクフィブロイン基材上で培養した細胞の遺伝子発現

(信大院・繊維) ○高瀬文香、千原緋菜乃

(信大・繊維) 橋本朋子、玉田靖

【緒言】

家蚕 (*Bombyx mori*) が吐糸する繭糸から得られるシルクフィブロイン (以下、SF) は生体安全性、生体親和性および機械的強度に優れており、近年、再生医療用足場材料としての応用を目指す研究が進められている。SF 基材上で培養した細胞は、他の基材上で培養した細胞に比較して顕著に移動性が高い事が報告¹⁾され、また細胞外マトリックスの産生や創傷治癒に関わる遺伝子発現の向上も見出されている。これまで作製方法や後処理を変えることで SF 基材上で培養した細胞の移動性が有意に異なることが確認²⁾されている。そこで SF 基材の表面形状および表面物性を調べた結果、液中における表面の凸凹や剛性が細胞移動性に関与していることが確認された。本研究では各 SF 基材上で培養した線維芽細胞の遊走や創傷治癒関連遺伝子を中心に評価し、SF 基材の表面物性と細胞挙動との関わりを調査した。

【実験】

家蚕繭 (*Bombyx mori*) から既報に従って SF 水溶液を調製し、スピンコート法及びキャスト法により SF 基材を作製した。スピンコート法で作製した基材については 80%メタノール水溶液により、キャスト法で作製した基材については 70%および 80%メタノール水溶液により後処理を行うことで作製方法の異なる SF 基材を作製した。コントロールとしてガラス表面へ化学的手法により PEG を固定化した基材を準備した。各基材上でマウス皮膚線維芽細胞 (NIH3T3) を 15 時間培養し、5 分間隔のタイムラプス撮影を行うことで細胞移動距離を測定し、細胞の移動性を調べた。また各基材上で NIH3T3 を 6、15、24、48 時間培養した後、RNA を回収し RT-qPCR により経時的な遺伝子発現量を調べた。

【結果と考察】

タイムラプス撮影による細胞移動距離測定の結果、作製方法を変えた SF 基材上での細胞移動性が異なることと、PEG 基材上では SF 基材よりも細胞移動性が低いことを確認した。また RT-qPCR による遺伝子発現量評価の結果、細胞の遊走や細胞外基質の産生を制御する形質転換増殖因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) の発現は培養初期 15 時間において 70%メタノールで不溶化処理をしたキャストコーティングの SF 基材 (70%MeOHcast) 上で有意に高く、TCPS 基材上で培養した細胞の遺伝子発現量の約 6 倍であった。また線維芽細胞の増殖や遊走に関与する線維芽細胞増殖因子 (FGF2) の発現も同様に

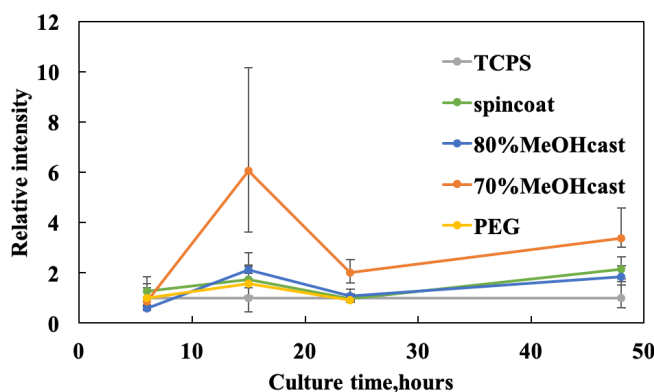


Fig.1 Relative mRNA expression levels of TGF- β in fibroblasts cultured on the TCPS, spincoat, 80%MeOHcast, 70%MeOHcast, and PEG.

70%MeOHcast 上で最も高くなった。他の創傷治癒関連遺伝子の発現解析結果も併せると SF 基材上で培養した細胞に認められる高い移動性は創傷治癒に寄与する可能性が示唆された。

1) Hashimoto, et al., J Biomater Sci Polym eds.(2013), 2) 千原ら、繊維学会秋季研究発表会(2021)

Gene expression of cells cultured on different silk fibroin substrates.

Ayaka TAKASE¹, Hinano CHIHARA¹, Tomoko HASHIMOTO¹, Yasushi TAMADA¹

¹Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan, Tel & Fax: +81-268-215605, E-mail: 22fs716c@shinshu-u.ac.jp