

研究成果報告書

【申請者氏名】

中澤 靖元

【所属機関】

東京農工大学

【研究題目】

次世代型シルク素材創製に向けたシルク物性改変技術の確立

【研究目的】

シルクタンパク質は、高い生体適合性や生分解性を有していることから、人工血管等の医療機器として期待されている一方で、その剛直性が課題となっている。そこで本研究では、シルク繊維の有する凝集構造を化学的に改変することで、剛直なシルクタンパク質を軟化させ、様々な医療機器への応用を可能とする次世代シルク素材の創製を試みる。さらに得られたシルク素材は、「全国シルクビジネス協議会」を活用し、医療分野のみならず環境素材や衣料分野などの用途展開を推進することで、シルク新産業の創出を図る。

【研究内容及び成果】

1. 緒言

シルクフィブロイン(SF)は家蚕から産生されるタンパク質の一種で、低炎症性といった生体適合性、調節可能な生体分解性、高強度な物性といった特徴を有することから組織工学材料として注目されている。このSFに対し物性や熱特性のさらなる改変を行うことで、組織工学材料として応用範囲の拡大や新たな加工成形法の創出の可能性が期待できる。SFは一次構造に(GAGAGS)の6残基から構成される繰り返し配列を有しており、この部分は一般に結晶領域と呼ばれている。この領域が β シート構造を主とする二次構造を形成し、さらに β シート同士がパッキングして結晶構造を形成することで高強度な物性や高い融点などの熱特性に寄与している。

本研究ではSFの物性や熱特性を変化させることを目的に下記3点について試みた。

- ① 高分子化合物を混合したSFの最適化
- ② SF製シートの作製方法に関する手法開発
- ③ SF結晶領域に化学的な修飾


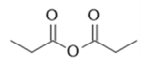
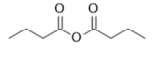
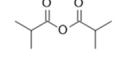
研究項目①および②に関しては本年11月に学会発表を行っている。また本研究におい

て特に重点的に実施した③については、結晶領域内に存在する Ser 残基に着目し、エステル化反応を用いた化学修飾により側鎖の導入を行うことで、が可能ではないかと考えた。下記に、エステル化シルクフィブロインの作成と示差走査熱量測定を用いた熱特性の変化について報告する。

2. 具体的研究方法

SF フィルムに対し、酢酸無水物を反応させエステル化 SF (ESF-A) フィルムを作製した。この4種類のフィルムを 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP) で溶解し、1.0 (w/v)%の ESF-A 溶液を調整した。同様に無処理の SF フィルムも HFIP に溶解することで 1.0 (w/v) %の非エステル化 SF (NSF) 溶液を得た。ESF-A 溶液と NSF 溶液をそれぞれ体積比 10:0, 70:30, 50:50, 30:70, 0:100 の割合で混合し、ポリスチレン製シャーレにキャストすることで再生エステル化 SF (NSF-ESF-A) フィルムを作製した。このフィルムに対し、昇温速度 10 °C/min、測定温度範囲 0 °C~350 °Cの条件で示差走査熱量測定 (DSC) を行った。また、Table 1 に示されたカルボン酸無水物による ESF-P、B、isoB と NSF-ESF-P、B、isoB の作製についても同様の手法で実施した。

Table 1 エステル化に用いたカルボン酸無水物

構造式	カルボン酸無水物	サンプル名
	酢酸無水物	ESF-A
	プロピオン酸無水物	ESF-P
	酪酸無水物	ESF-B
	イソ酪酸無水物	ESF-isoB

3. 現時点での研究成果

Fig. 1 は酢酸無水物を用いて作製した NSF-ESF-A フィルムの DSC 測定結果を示す。ESF-A:NSF = 100:0 のフィルム (赤) では融点が 291.2 °C、ESF-A:NSF = 0:100 フィルム (青) では 280.6 °C とエステル化後は融点が 10.6 °C 上昇した。また、フィルムの融点は ESF-A のブレンド比が増加するに従い上昇し、融点ピークの分裂が見られなかったことから ESF-A のブレンド比を調節することで熱物性を制御することが可能であると考えられる。また、赤外分光法により NSF-ESF-A フィルムでは β シート構造の割合増加がみられたことからエステル化による二次構造の変化と融点上昇に関連性があると考えられる。そして、NSF-ESF-P、B、isoB においても NSF-ESF-A と同様なブレンド比に依存した融点の変化がみられた。また、ESF:NSF =

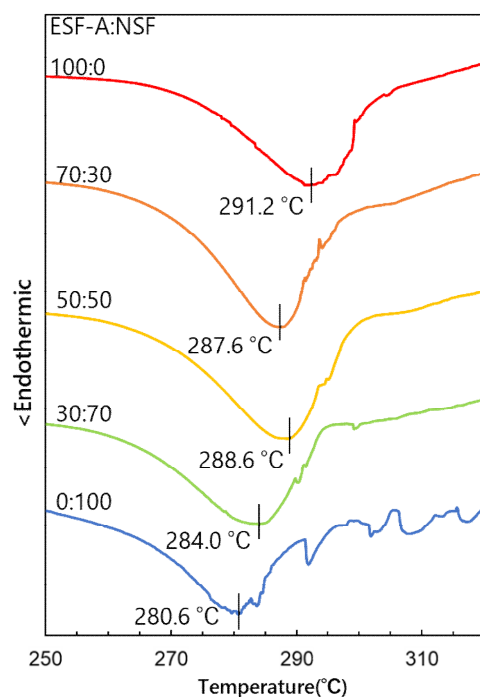


Fig. 1 NSF-ESF-A フィルムの DSC 測定結果 (250 °C~320 °Cの拡大図)

100:0 のフィルムでは NSF-ESF-isoB の融点が最も低くなった。

以上より SF のエステル化に成功し、NSF-ESF フィルムの融点の上昇が確認できた。また、ESF と NSF のブレンド比を変化させることにより、熱物性に影響を与えることが示された。今後は、導入する側鎖を変化させることやブレンド比を調節することで SF 単体での熱物性の制御手法を見出し、SF の新規加工成形法の創出を目指す。

【今後の課題】

当初研究計画で示した、各種酸無水物の修飾を行う事ができ、また、未修飾のシルクフィブロインとの混合によりその熱的性質を制御することができたため、計画通りの成果を得ることができた。今後は、今年度実施が未達となった、カイコの品種を変え、エステル化シルクの作製を試みると共に、未修飾とのシルク混合、各種物性評価を実施し、新規素材の創出に繋げる。

現段階での課題は下記のとおり。

(1) 調整法について

シルク水溶液を用いたエステル化反応が難しいため、現段階では、フィルム用いた手法を採用している。本手法においてエステル化は成功しているが、今後スケールアップするには手法の改良が必要不可欠である。

(2) 社会実装について

当初計画では、2 年目以降に社会実装に向けた取り組みを予定していた。当初計画は順調に達成していると考えているが、バイオプラスチックとしての最適化を行うには、更なる基礎的な知見集積が必要であるため、(1) の課題達成も含めた最適化検討を継続的な実施が必要であると判断した。

【発表論文等】

学会発表

1. シルクフィブロインを基盤とした組織再生型傾斜材料の開発と人工血管への応用、小柳英里、太良修平、中澤靖元
第 58 回日本人工臓器学会（2020 年 11 月 12～14 日）【優秀ポスター賞受賞】
2. 心血管修復シートを目指したシルクフィブロイン-ポリウレタン複合化シートの創製
吉田安里、本田惟克、島田亮、島田香寿美、根本慎太郎、中澤千香子、中澤靖元
第 58 回日本人工臓器学会、2020 年 11 月 12～14 日

※学会発表 1、2 については、現在論文投稿に向けた執筆を続けている。また、研究項目③については、特許性について調査を実施しており、特許申請後に論文投稿を行うことを予定している。