

論 文 要 旨

Silk fibroin produced by transgenic silkworms overexpressing the Arg-Gly-Asp motif accelerates cutaneous wound healing in mice.

Transgenic RGD シルクフィブロインは創傷治癒を促進する

馬場 淳徳

シルクフィブロイン (SF) はシルク繊維の主成分で、再生医療材料として注目されている。皮膚科領域では創傷被覆材としての利用が検討されている。創傷治癒においては細胞と周辺の基質との相互作用が重要であり、中でも Arg-Gly-Asp のアミノ酸配列 (RGD 配列) を介する細胞との接着は、細胞膜上のレセプターであるインテグリンと複合体形成を介し創傷治癒に関連していることが明らかになっている。近年カイコの遺伝子組換え技術が確立され、RGD 配列などの細胞接着性モチーフを遺伝子導入することが可能となった。我々は RGD 配列を遺伝子導入した transgenic SF film の創傷治癒効果について、皮膚全層欠損モデルマウスを用いた *in vivo* の系と、ヒト線維芽細胞を用いた *ex vitro* の系 (Scratch assay・Fibroin addition assay・Fibroin coating assay・Western blotting) で、野生型 SF film およびウレタンフィルム (対照) と比較検討した。

ダーモスコピーによる観察で TG-ASFF は D12 において対照 (ウレタンフィルム) と比較して有意に創閉鎖を促進していた。

肉芽の断面積は対照と比較して D4、D8、D12、肉芽の厚さは対照と比較して D8、D12、WT-ASFF と比較して D12 に有意差が認められた。

CD31 染色による新生血管の評価で WT-ASFF は対照と比較して D8、D12 において有意に新生血管の増生を認めた。

Scratch assay では SF は対照と比較して有意に線維芽細胞の遊走を促進した。

Fibroin addition assay において WT-SF は濃度依存的に線維芽細胞の増殖を促進した。WT-SF と TG-SF は対照と比較して有意に線維芽細胞の増殖を促進したが、両者の間に有意差はなかった。

Fibroin coating assay では対照と WT-SF の間に有意差は認めなかった。TG-SF は WT-SF、対照と比較して有意に線維芽細胞の増殖を促進した。

Western blotting にて、JNK と ERK のリン酸化がみられピークはそれぞれ 30 分と 3 時間であった。

我々は本研究で、皮膚全層欠損マウスモデルにおいて TG-ASFF が対照よりも有意に創傷閉鎖および肉芽形成を促進すること、*ex vivo* の系で SF が線維芽細胞の遊走と増殖を促進することを示した。またこれらの作用は MAP Kinase 経路のリン酸化を介する可能性を示した。増殖能の検討で fibroin coating assay では TG-SF は WT-SF より有意に増殖を促進したが、fibroin addition assay では、TG-SF と WT-SF の間に有意差は認められなかった。この結果は TG-SF は線維芽細胞との接着を介して増殖効果を発揮することを示唆している。

本研究の結果から SF は創傷被覆材として優れた素材であると考えられる。今後臨床応用に向けて TG-SF の安全性について検証する必要がある。