

## オリゴ乳酸-IKVAVペプチド結合体を用いた神経誘導管の高機能化

国立循環器病研究センター 研究所生体医工学部

徐于懿, 山岡 哲二

Yu-I HSU, Tetsuji YAMAOKA

### 1. 目的

神経断裂は、運動および感覚機能の喪失をもたらす。小さな欠損は外科的縫合により修復できるが、欠損が大きい場合には、自家神経の移植により損傷部位を治療する。しかし、複数の手術の必要性やサイズの不適合に加えて、正常神経の損傷や機能喪失など問題が多い。そこで、我々は、オリゴ乳酸-IKVAV (Ile-Lys-Val-Ala-Val) ペプチド結合体 (ac-ODLA-IKVAV) によって機能化した、ポリ乳酸ナノファイバー製神経誘導管の開発を進めてきた。本研究では、親水性IKVAVペプチドによる機能性のさらなる向上が必要と考え、ナノファイバー最表面でのIKVAV配列の露出効率を向上させる新たなオリゴ乳酸-ペプチド結合体を検討した。

### 2. 方法

ac-ODLAとIKVAVとの結合部位に親水性リンカーとしてジエチレングリコール (diEG) を導入し、ac-ODLA-diEG-IKVAVを合成した。その後、PLLA (poly-L-lactic acid) とac-ODLA-diEG-IKVAVをHFIP (Hexafluoroisopropanol) に溶解して、エレクトロスピーニングによりナノファイバーシートを作成した。作成したナノファイバーシートは水中でそれぞれ、室温、60℃、70℃、80℃で熱処理し、表面に露出しているIKVAVペプチドのリジン残基 (K) の側鎖アミノ基に蛍光試薬のFITC (fluorescein isothiocyanate) を反応させて、共焦点顕微鏡により蛍光観察することでIKVAVの表面露出効率を評価した。また、PC-12細胞を播種して細胞接

着率に与えるIKVAV配列の効果を評価した。

### 3. 結果

親水性セグメントを導入したac-ODLA-diEG-IKVAVでは、従来のac-ODLA-IKVAVに比較すると、蛍光強度が強く、IKVAV部の表面露出効率が向上していることが示された。また、60℃で熱処理したナノファイバーシートの蛍光強度が最も高く、熱処理温度の上昇とともに蛍光強度が低下した。ナノファイバーシートにPC-12細胞を4時間培養した後、PLLA/ac-ODLA-diEG-IKVAVのシートでは、細胞が繊維に沿って伸展している様子が見られ、60℃で熱処理したナノファイバーシートでは、接着した細胞が最も多いことが観察された。

### 4. まとめ

PLLA/acODLA-diEG-IKVAVは、より強い蛍光強度を示し、ファイバー表面にIKVAV配列の表面露出効率が高いことが示唆された。PLLAのガラス転移温度 (56℃) 付近の温度で熱処理した後、ファイバー表面にIKVAV配列の表面露出効率はさらに高くなった。

### 5. 独創性

細胞接着性ペプチドと隣接する位置に親水性セグメントを導入し、さらに、成形体をそのガラス転移温度 (Tg) の温度で熱処理することにより、効率的に細胞接着性ペプチドを表面に露出させることができることを実証した。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

#### ■ 著者連絡先

国立循環器病研究センター 研究所生体医工学部

(〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1)

E-mail. yuihsu@ncvc.go.jp