

【目的】 生体に存在する間葉系幹細胞は損傷を受けた組織を修復・再生する際の細胞供給源になっていると考えられており、すでに幹細胞を用いた治療が開始されている。近年、これらの組織修復能に幹細胞が分泌するエクソソームが深く関与しており、新たな再生治療のツールとして期待されている。幹細胞由来エクソソームの臨床応用に際して、病変部にエクソソームを長期に留まらせ、効果を持続させるための技術が必要とされている。本研究では、間葉系幹細胞由来エクソソームを用いた新たな治療法の開発を目的に、カチオン化ハイドロゲルを用いたエクソソーム徐放技術を開発し、脊髄損傷げっ歯類モデルを用いてその有効性について評価する。

【方法】 間葉系幹細胞の培養上清から超遠心法を用いてエクソソームを回収し、粒子径の測定およびエクソソームのマーカである TSG101 の検出を行った。次に、等電点 9.0 のゼラチン水溶液にエチレンジアミンを添加し、作製したカチオン化ゼラチンに 160°C で 24、48 または 96 時間の熱架橋を加え、カチオン化ハイドロゲルを作製した。エクソソームをハイドロゲルに含浸させ、コラゲナーゼを用いてゲルを分解することで、ゲルの分解およびエクソソームの徐放能を評価した。また、徐放されたエクソソームの抗炎症効果を評価するために、リポポリサッカライド (LPS) で刺激したマウスミクログリア細胞株 BV-2 を用いて IL-1 β 、TNF- α および IL-6 の mRNA の発現量を評価した。さらに、脊髄損傷モデルラットにエクソソームを浸潤させたハイドロゲルを埋植し、運動機能の変化について評価した。

【結果】 作製したカチオン化ハイドロゲルは全ての架橋条件において白色で多孔性であった。ハイドロゲルは PBS ではほとんど分解されず、コラゲナーゼを添加することで分解された。架橋が弱いゲルほど速く分解され、分解とともにエクソソームが徐放された。また、徐放されたエクソソームは LPS によって刺激された BV-2 の IL-1 β の mRNA 発現量を有意に減少させ、IL-6 の mRNA 発現量においても減少傾向を示した。さらに、エクソソームを浸潤させたハイドロゲルを埋植した脊髄損傷ラットでは、PBS を浸潤させたハイドロゲルを埋植したラットと比較して、有意に運動機能が改善した。

カチオン化ハイドロゲルを用いたエクソソーム徐放技術の開発

