

【目的】 脂肪由来間葉系幹細胞 (ASC) が、細胞治療による再生医療の供給源として注目を集めているが、その作用の一端を担うものとしてエクソソームが注目されている。エクソソームとは直径 40~200 nm ほどの細胞が放出する細胞外小胞体であり、細胞が持つ働きの媒介を担うことが知られている。このような間葉系幹細胞のエクソソームが治療効果を持つことが近年分かってきており、多くの研究が行われている。安全性の点では、ASC は体外で長期培養した際に染色体異常などのゲノム異常が生じる可能性があるが、ASC エクソソームは、cell-free であり、その心配は少ない。さらに、細胞を移植することに比べエクソソームのみを単離して使用することで、治療効果の調節が簡単になり、移植した細胞の壊死や予期せぬ細胞への分化の懸念を除けるといった利点がある。ASC を様々な条件下で培養する (Preconditioned ASC) ことで、ASC が分泌するエクソソーム (Preconditioned ASC Exosome) の性質が変わってくるのが明らかになってきた。例えば、低酸素下で培養した ASC の分泌するエクソソームが血管新生を亢進させることが分かってきている。今回、我々は、ASC をいくつかの低分子化合物下で培養し、その性質変化を見るときともに、特定の化合物下で精製されたエクソソームの持つ性質を調べた。

【方法】 ASC の培養にあたり、4 種の低分子化合物 (W、X、Y、Z) を混合して、培養を行った。それぞれの低分子化合物の有無から、 $2 \times 2 \times 2 \times 2 = 16$ 通りの培養を行い、ASC の培養に与える影響を形態の変化、老化度、増殖率から解析を行った。その中から増殖率を低下させる低分子化合物を除外し、残った低分子化合物で培養された ASC の持つ機能を調べるため、それらからエクソソームを精製した。精製されたエクソソームのリンパ管内皮細胞に対する機能解析のため、Proliferation assay を行った。最もリンパ管新生作用を持つエクソソーム中に含まれる miRNA を解析するため、miRNA PCR array を行った。

【結果】 ASC の形態変化、老化度、および増殖率から、W、X、WX、XY、WXY の 6 つに絞り、解析を行った。各々の条件下で精製されたエクソソームをリンパ管内皮細胞に添加し、解析を行った。Proliferation assay にて最もリンパ管新生の亢進を見せたのは、低分子化合物 X から精製されたエクソソームであった。そこでこの X から精製されたエクソソームと通常の ASC エクソソームを miRNA PCR array にて解析したところ、X から精製されたエクソソームには miR-AAA、miR-BBB、miR-CCC、miR-DDD、miR-EEE が多く含まれていることが分かり、また文献的考察より、これらの miRNA がリンパ管新生を誘導する因子と考えられた。

ASC エクソソームを用いた治療法の概要

