

【目的】術後腹膜癒着は多くの外科医にとって永遠の課題である。外科手術により腹膜中皮細胞層が障害され消化器や生殖器と腹壁や臓器同士が癒着し腸の通過障害・不妊・2次手術のリスクを増大させる。臨床においては特に肝臓がん切除に伴う腹膜癒着が重篤でありヒアルロン酸 (HA) を主原料にした **Seprafilm** 等の既存の癒着防止材の性能が不十分である。そこで本研究では、再生医療においてステロイド治療抵抗性の GVDH に承認された MSC 細胞製品が、IL10 非依存的な炎症ルートとして着目されている TSG-6 を分泌することの重要性に着目し、その HA 結合部位であるリンクモジュールを用いた炎症制御性 injectable ハイドロゲルの開発を目指した。

【方法】リンクモジュールの C 末端に微生物由来トランスグルタミナーゼ (MTG) 反応性 tag を付加した機能化リンクモジュールを設計後、大腸菌で発現しアフィニティークロマトグラフィーにより精製した。等温滴定型カロリメトリー (ITC) により HA 結合能を定量的に評価した。また、ゼラチンとの混合系を用いて異なる pH 条件下における機能化リンクモジュールの MTG 反応性を検討した。さらに、医用応用のためのエンドトキシン除去法の検討を行った。最後に機能化リンクモジュールを HA およびゼラチンと混合し MTG で架橋することでハイドロゲル作製を検討した。

【結果】設計したリンクモジュールの発現・精製に成功し、 $>1 \text{ mg/L culture}$ スケールを達成した。精製した機能化リンクモジュールは pH 依存的な HA 結合特性を示し、pH6.0 から pH7.4 において相互作用に伴うエンタルピー変化が減少するとともに、タンパク当たり結合可能な HA の単糖数が減少することが示された。機能化リンクモジュールとゼラチンの混合系での MTG 反応性は、より高い pH において反応が進み pH8.0、9.0 では 90%以上の反応率を示した。ゼラチンと HA のゲルでは白濁したゲルが得られた一方で機能化リンクモジュールの混合系では、透明のゲルが形成されハイドロゲルの作製に成功した。押し込み試験によってゲルの力学強度を評価した結果、機能化リンクモジュールの混合系では Young's modulus が増加する傾向にあることが示された。

機能化リンクモジュールの設計とハイドロゲルの作製

