

学位研究紹介

骨髄間葉系幹細胞培養上清由来エクソソームは血管新生を介した骨再生を促進する
Exosomes from conditioned media of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote bone regeneration by enhancing angiogenesis

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
 顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野
 竹内 涼子

Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Course for Oral Life Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
 Ryoko Takeuchi

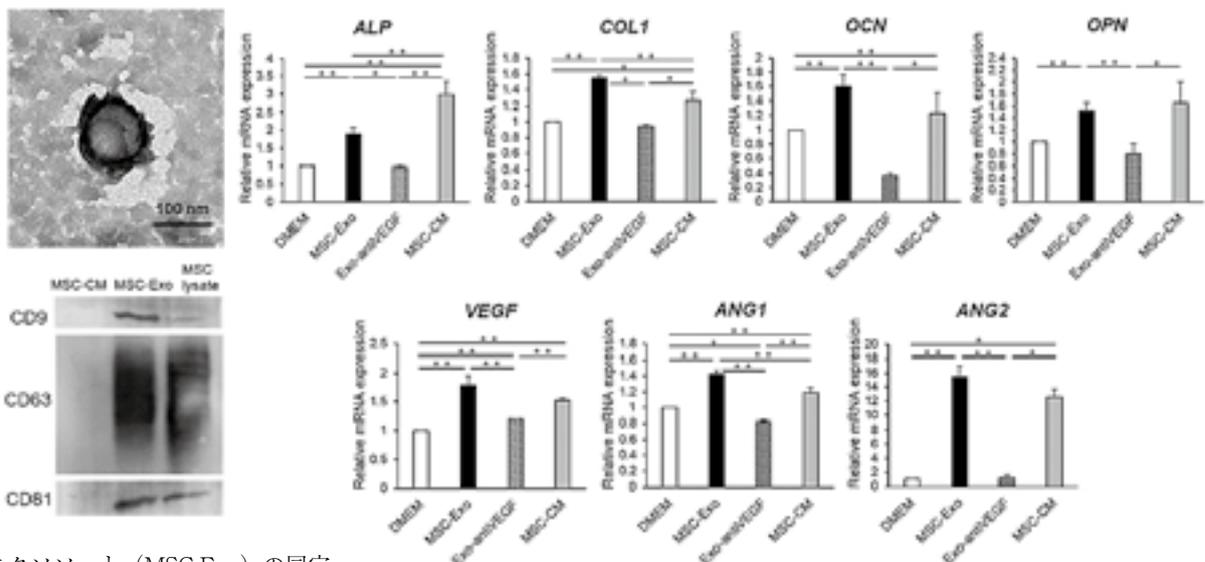
【背景】

間葉系幹細胞 (MSCs) による組織再生において、細胞自身の分化だけでなく細胞からパラクラインに分泌される因子が大きく関与していることが明らかになっている。われわれは幹細胞の培養上清 (Conditioned Media; CM) に含まれる液性因子が組織再生において重要であ

ることを報告してきた。CM の構成因子の一つであるエクソソームはあらゆる細胞が分泌する細胞外小胞で細胞間情報伝達に関与しており、血管新生を介して組織の修復や再生に寄与することが報告されている。本研究ではヒト骨髄間葉系幹細胞 (hMSCs) の CM 由来エクソソームによる骨再生について検討した。

【材料・方法】

hMSCs の培養上清から超遠心法にて細胞外小胞を分離し、表面マーカーの発現などによりエクソソーム (MSC-Exo) であることを確認した。MSC-Exo 添加培地または MSC-Exo 添加培地に血管新生阻害剤を加えた培地にて hMSCs を培養し、細胞の遊走能や石灰化能、さらに骨形成および血管新生関連遺伝子の発現について検討した。またラット頭蓋骨骨欠損モデルを作成し、MSC-Exo または MSC-Exo+ 血管新生阻害剤を移植し、それぞれの骨形成についてマイクロ CT にて 1 週毎の経時的評価を、2 週および 4 週間後に組織学評価を行なった。実験群として MSC-Exo 群、エクソソームによる VEGF の影響の検討するために MSC-Exo に antiVEGF を投与する群 (Exo-antiVEGF 群) を用意し、対照群として DMEM 群 (*in vitro*)、PBS 群 (*in vivo*)、MSC-CM 群を設定した。



エクソソーム (MSC-Exo) の同定
 上：透過型電子顕微鏡像
 下：ウエスタンブロットによる表面マーカーの検出

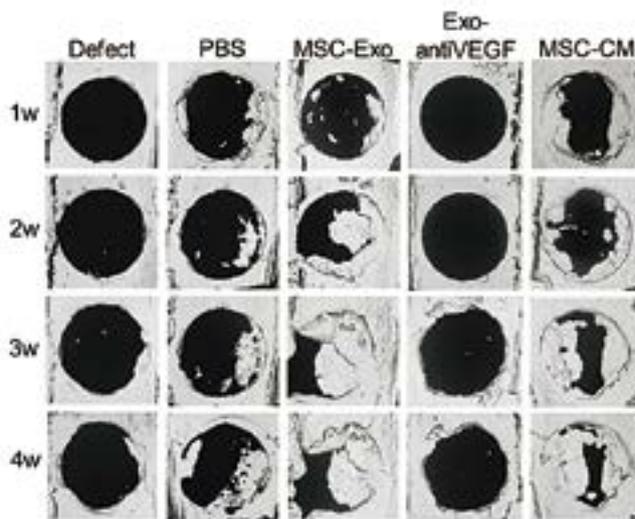
qPCR による骨形成および血管形成関連遺伝子の発現

【結 果】

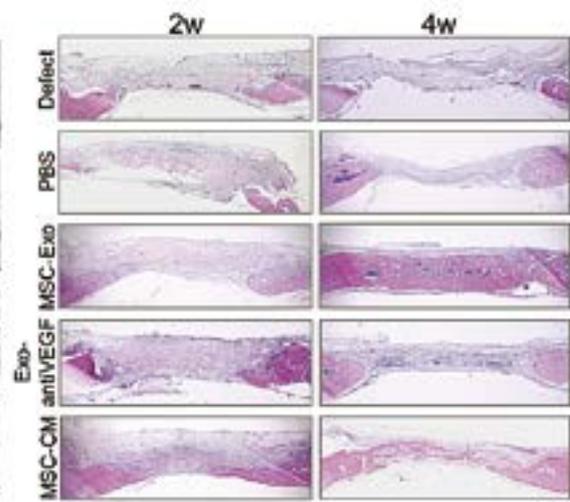
MSC-Exo は細胞の遊走および石灰化を亢進させ、骨形成および血管新生関連遺伝子の発現を亢進させた一方、MSC-Exo+ 血管新生阻害剤添加群ではそれらは有意に減少した。CT 画像および H-E 染色像では MSC-Exo 群において、MSC-Exo+ 血管新生阻害剤添加群や PBS 群と比較し、早期からの骨形成が認められた。免疫組織化学的には、MSC-Exo 群で幹細胞や血管内皮細胞が観察された一方、血管新生阻害剤移植群や PBS 群ではそれらの所見は乏しかった。

【考 察】

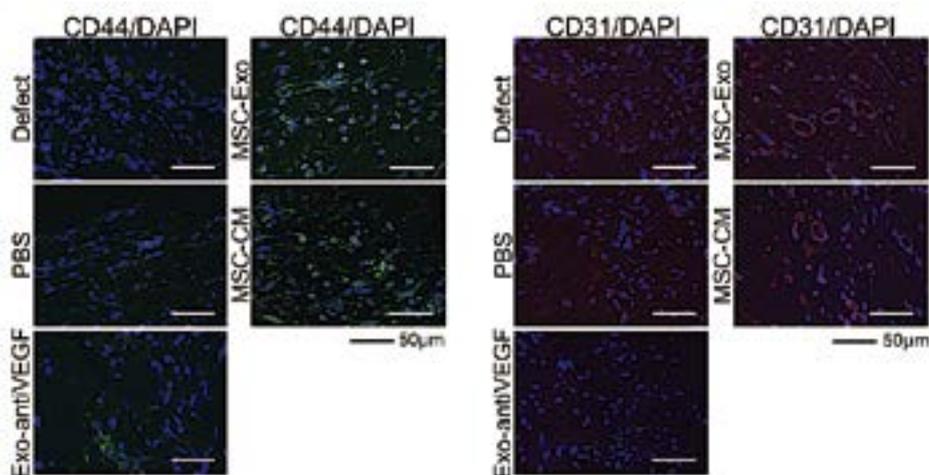
MSC-Exo は血管新生の亢進を経て早期の骨再生を促進させたことが示された。このことは CM における骨再生においてエクソソームが重要な役割を担うことを示唆するものであった。エクソソームによる骨再生は骨補填剤の利用や細胞移植など従来の骨再生医療に代わる新たな方法として有用であると考えられた。



マイクロ CT によるラット頭蓋骨の経時的 3D 画像



頭蓋骨冠状断面 H-E 染色像



CD44 および CD31 陽性免疫蛍光染色像