



iPS細胞由来軟骨を用いた再生治療法の開発

医学系研究科 生化学・分子生物学講座（組織生化学）

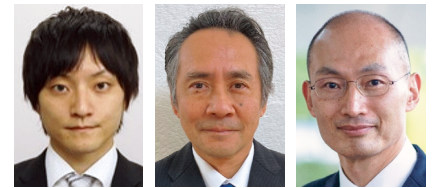
助教 阿部 健吾

<https://researchmap.jp/kabe1109>

特任助教 島 伸行

<https://researchmap.jp/maychan>

教授 妻木 範行

<https://researchmap.jp/cart>

研究の概要

関節軟骨は自己修復能に乏しく、損傷すると自然に治癒しないため再生治療が期待されている。iPS細胞から作製した軟骨（iPS-Cart）は、関節軟骨損傷を治療するための同種軟骨移植の有望なリソースと考えられるが、同種軟骨移植における免疫反応については不詳であった。そこで、サル膝関節軟骨欠損モデルに同種iPS-Cartを移植したところ、移植群は硝子軟骨で修復され、免疫反応を起こさず、正常関節軟骨に近似した遺伝子発現プロファイルを示した。また、移植後のiPS-Cart表層には潤滑機能を担うPRG4の発現が誘導され、関節軟骨として機能していることがわかった。iPS-Cartの軟骨疾患以外への適応についても検討した結果、免疫不全ラットの椎間板変性モデルにヒトiPS-Cartを移植すると椎間板の変性が抑制され、免疫不全マウスの大腿骨重症骨欠損モデルへの移植により骨形成を認めた。

研究の背景と結果

関節軟骨は損傷を放置すると周囲軟骨に変性を引き起こし、しばしば変形性関節症に至る。軟骨損傷に対する既存の細胞治療は、移植細胞が一過性に産生する因子が宿主組織を活性化することで修復が起きるとされており、その修復力も限定的である。そこで我々は、iPS細胞から作製した軟骨（iPS-Cart）を損傷組織に移植することにより、移植物自身が修復組織を構成する根治的な再生治療の実現を目指している。軟骨は無血管であり軟骨細胞は豊富な細胞外基質に囲まれているため、免疫細胞が軟骨細胞に接触できず免疫特権を有すると考えられているが、その詳細な機序は不明であった。そこで、サル膝関節軟骨欠損モデルに同種iPS-Cartを移植したところ、移植群は硝子軟骨で修復され、宿主軟骨との癒合を認め、免疫反応を起こさなかった。また、iPS-Cart表層におけるPRG4発現の誘導により潤滑能を獲得し、少なくとも4カ月間は関節軟骨として機能していた。一方、移植しなかった群は機能性が劣る線維軟骨組織で修復された。シングルセルRNAシーケンス（scRNA-seq）解析の結果、iPS-Cartは移植後さらに軟骨様に変化し、正常関節軟骨に近似した遺伝子発現プロファイルを示した。

椎間板髄核の変性は腰痛の原因となっており椎間板再生治療が期待されている。椎間板髄核と軟骨をscRNA-seqで解析した結果、両者の遺伝子発現プロファイルは極めて類似していた。そこで、ヌードラットの尾椎椎間板変性モデルにiPS-Cartを移植したところ、移植しなかった群では椎間板が変性したが、移植群では椎間板の変性が抑制された。

解放骨折や骨腫瘍の手術治療後には大きな骨欠損が生じ、難治性となる。iPS-Cartは胎児期の軟骨原基に相当する性質を持つ。そこで、スキッドマウスの大腿骨骨欠損モデルにiPS-Cartを移植したところ内軟骨性骨化を誘導し、骨欠損部に骨形成を認めた。

研究の意義と将来展望

iPS-Cartの移植が、軟骨損傷、椎間板変性、難治性骨欠損の再生治療に応用できる可能性が示唆された。現在、関節軟骨損傷患者を対象に、同種iPS-Cartを軟骨損傷部に移植する臨床研究を進めており、ヒト proof of conceptの取得により、iPS-Cartの社会実装への道筋も具現化することが期待される。

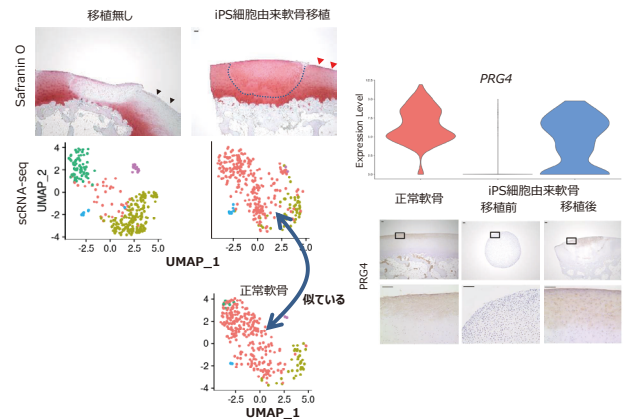


図1. サル膝関節軟骨欠損への同種軟骨移植

免疫反応は惹起されず、移植物自身が生着して軟骨組織を構成した。移植をしないと欠損周囲の宿主軟骨も変性した（黒矢印）。移植群では周辺部の変性は起きなかった（赤矢印）。移植軟骨は正常軟骨に近似した遺伝子発現プロファイルを示し、軟骨表層では正常軟骨と同様に潤滑機能を担うPRG4の発現が誘導された。

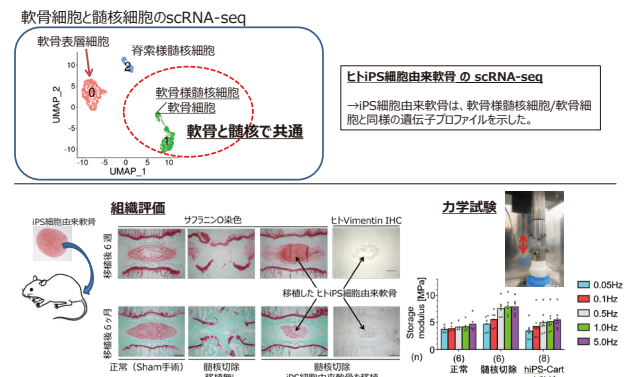


図2. 髄核を抽出したヌードラットへのヒトiPS細胞由来軟骨移植による椎間板再生効果

iPS細胞由来軟骨の遺伝子発現プロファイルは軟骨様髄核細胞および軟骨細胞のそれらと類似しており、髄核切除モデルに移植すると髄核を空間的および機能的に置換することが示唆された。

図3. iPSC由来軟骨移植による骨欠損部の内軟骨性骨化
スキッドマウスの大腿骨に作製した骨欠損部位にiPS細胞由来軟骨パーティクルを移植した。移植しなかったEmpty群では骨形成をほとんど認めなかったが、移植群では内軟骨性骨化による骨形成を認めた。

特許 特許第6694215号、特許第6635505号

論文 Abe, Kengo; Yamashita, Akihiro; Morioka, Miho et al. Engraftment of allogeneic iPS cell-derived cartilage organoid in a primate model of articular cartilage defect. Nature Communications. 2023, 14, 804. doi:10.1038/s41467-023-36408-0
Kamatani, Takashi; Hagizawa, Hiroki; Yarimitsu, Seido et al. Human iPS cell-derived cartilaginous tissue spatially and functionally replaces nucleus pulposus. Biomaterials. 2022, 284, 121491. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121491
Iimori, Yuki; Morioka, Miho; Koyamatsu, Saeko et al. Implantation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilage in Bone Defects of Mice. Tissue Eng Part A. 2021, 10, 20915. doi: 10.1089/ten.TEA.2020.0346

参考URL <https://tissuebiochemistry.wixsite.com/website>

キーワード 関節軟骨損傷、同種移植、椎間板変性、骨欠損、iPS細胞