

令和元年6月4日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10904

研究課題名(和文) 半月板分化誘導因子の同定と転写複合体導入による半月板再生

研究課題名(英文) Meniscus cell differentiation and meniscal regeneration

研究代表者

古松 毅之 (Furumatsu, Takayuki)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：20432651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 膝関節内に存在する半月板は、膝関節軟骨への荷重を分散し、衝撃を吸収するための組織である。半月板の主成分はI型コラーゲンであるが、一部にII型コラーゲンが含まれている。本研究では、生理的な機械的ストレスが、半月板細胞におけるII型コラーゲンの発現を増強させることを明らかとした。また、II型コラーゲンの遺伝子発現を制御する転写因子であるSOX9を強制的に誘導することで、II型コラーゲンの発現を増強させることが可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スポーツや加齢により半月板が損傷されると、一部の軽微な断裂を除いてそのほとんどが自然治癒しにくく、膝関節痛や違和感などに長期間にわたって悩まされるとともに、変形性膝関節症を進行させる危険性が高まる。また、安易に半月板部分切除術などを受けた場合、失われた半月板組織が再生することはないと考えられている。本研究は、半月板の修復を促進させるとともに、日本の医療で現在解決されていない半月板欠損に対する新規治療を探求するものである。

研究成果の概要(英文)： The meniscus has several functions to regulate physiological mechanical stresses such as joint load and movements. Cyclic tensile strains can increase type II collagen expression via SOX9-dependent pathway. This study demonstrated that a physiological tensile strain restored type II collagen expression in dedifferentiated meniscus cells, especially in inner meniscus cells.

研究分野： 整形外科学

キーワード： 半月板 再生医療 分化誘導 半月板後根 メカニカルストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

【研究課題】半月板分化誘導因子の同定と転写複合体導入による半月板再生

近年、半月板損傷に対する関節鏡視下縫合術は、飛躍的な進歩を遂げている。しかし、変性半月板や非血行領域に対する縫合術の成績は不安定であり、半月板の自己修復力には限界がある。ましてや、高度の摩耗や欠損をきたした半月板に対しては、現時点では有効な治療法が存在しない。

半月板の機能不全により膝関節が過剰なメカニカルストレスに曝されることは、変形性膝関節症(膝 OA)を進行させる要因であると認識されつつある。同様に、軟骨損傷や前十字靭帯断裂も自然治癒を期待しにくい病態であり、膝 OA を続発する可能性が高い。ただし、軟骨損傷や靭帯断裂に対しては代替的な治療法が既に存在しているとともに、それぞれの発生分化を司る主要転写因子が同定されていることから、再生医療分野での技術開発が進んでいる。一方で、半月板変性断裂・欠損に対する同種および人工半月板移植(本邦では未認可)の治療成績は満足できるものではない。また、半月板の分化誘導を決定づける因子も同定されておらず、再生医療の研究面でも大きく遅れをとっている。

2. 研究の目的

研究開始当初の背景を踏まえ、「半月板分化誘導因子を同定することで、半月板修復を促進し、かつ半月板の再生を効率よく誘導できるのではないか」と考え、本研究計画の着想に至った。これまでに申請者は、半月板 inner 細胞と血行領域に存在する outer 細胞の特徴を分子生物学的に比較し、inner 細胞の自己修復活性において、どのような因子が重要であるかを検討してきた。これまでの結果から、inner 領域に存在する II 型コラーゲンの産生には、半月板細胞においても軟骨細胞と同様に軟骨細胞分化を制御する転写因子 SOX9 の活性化が重要であることが明らかとなった。また、半月板細胞に対する機械的伸張刺激も、SOX9 発現、細胞外基質産生、および成長因子分泌の維持に重要であることを示唆する結果が得られている。

本研究は、「半月板分化誘導因子の同定」と「それら転写複合体導入による半月板再生」を目標としている。

3. 研究の方法

- 半月板細胞への再分化誘導 -

人工膝関節置換術の際に摘出した半月板から半月板細胞を分離培養した。変性が少なく、肉眼的に正常と考えられる半月板から、inner 1/2 領域と outer 1/2 領域を分割し、細胞を out-growth 法で回収した。得られた半月板細胞は passage 1~3 を実験に使用した。半月板細胞への生理的な周期的伸張刺激(5% strain, 0.5 Hz, STREX 社製 ST-140)が、特に inner 細胞における II 型コラーゲン遺伝子(COL2A1)の発現を増強させることから、細胞培養の過程で脱分化した半月板組織由来細胞に軟骨細胞分化誘導を司る転写因子である SOX9 を強制発現させ、周期的伸張刺激により再分化させることが可能かどうかを検討した。同様に、内側半月板後根付着部から靭帯様細胞を分離培養し、周期的伸張刺激に対する反応性を検討した。

4. 研究成果

研究の結果、転写因子 SOX9 の発現を再獲得し、それを維持することができれば、半月板 inner 細胞においては COL2A1 の発現を周期的伸張刺激で再度賦活化させることが可能であることが明らかとなった。一方で、半月板 outer 細胞では SOX9 を強制発現させた場合においても、COL2A1 発現の増強が認められなかった。また、内側半月板後根付着部細胞は outer 細胞と同じく線維芽細胞様の形質を維持しており、COL2A1 の発現をほとんど認めなかった。現段階では、半月板 inner 領域の再生を目指すにあたって、周期的伸張刺激だけでは SOX9 の発現を十分なレベルにまで賦活化できないことが判明した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Furumatsu T, Maehara A, Okazaki Y, Ozaki T. Intercondylar and central regions of complete discoid lateral meniscus have different cell and matrix organizations. J Orthop Sci. 2018;23:811-818. doi: 10.1016/j.jos.2018.05.006. 査読有
Tanaka T, Furumatsu T, Miyazawa S, Fujii M, Inoue H, Kodama Y, Ozaki T. Hyaluronan stimulates chondrogenic gene expression in human meniscus cells. Connect Tissue Res. 2017 58:520-530. doi: 10.1080/03008207.2016.1264944. 査読有

〔学会発表〕(計 20 件)

Okazaki Yu, Furumatsu T, Maehara A, Miyazawa S, Kamatsuki Y, Hino T, Okazaki Yo, Masuda S, Ozaki T. Cyclic tensile strain stimulates COL2A1 expression in meniscal horn cells. ORS Austin, Texas, USA. 2019/2/2-5.
前原亜美、古松毅之、児玉有弥、日野知仁、釜付祐輔、岡崎良紀、呂智超、尾崎敏文 完全型円板状外側半月板における顆間部と中央部の性質の比較 日整会基礎 宜野湾市 2017/10/26-27
Kodama Y, Furumatsu T, Maehara A, Kamatsuki Y, Ozaki T. Cluster formation in the degenerative torn meniscus and its extracellular matrix component. EORS Munich, Germany, 2017/9/13-15
古松毅之、児玉有弥、釜付祐輔、前原亜美、尾崎敏文 半月板修復を目指す医療の現状 日本結合組織学会 津市 2017/6/16-17
前原亜美、古松毅之、藤井政孝、児玉有弥、釜付祐輔、呂智超、尾崎敏文 完全型円板状外側半月板における顆間部・中央部の比較検討 軟骨代謝学会 京都市 2017/3/3-4

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 該当なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 該当なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。