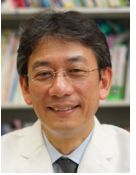


運動器構成細胞群が織りなす時空間的ダイナミクスを包括した統合運動器学の確立

	研究代表者	東京大学・医学部附属病院・教授
		田中 栄 (たなか さかえ)
研究課題情報	課題番号: 23H05484	研究期間: 2023年度~2027年度
	キーワード: 統合運動器学、運動器疾患、シングルセル解析、プロジェクト	

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●研究の全体像

運動器の組織には特異的な体細胞や線維芽細胞のほか、マクロファージ、T細胞、自然リンパ球などの免疫細胞が存在し、各組織の恒常性維持に深く関与する。研究代表者らはこれまで、シングルセルRNAシーケンス解析を駆使して関節の維持や関節疾患の発症における免疫細胞群の関わりを数多く見出したが、一方で各組織には未分化な細胞プロジェクターから成熟した体細胞まで緩やかに連続した一群が存在し、免疫細胞群と綿密に情報伝達を行っていることを見出した。本研究課題ではこれまで得られた知見を発展的に継承し、運動器を構成する体細胞とプロジェクター、組織常在型の免疫細胞群、循環型の免疫細胞群などの複雑な細胞群が、力学的負荷を受け続ける運動器の発達、維持、修復、変性をどのように制御しているのか、一細胞解析技術を用いて最新のマルチオミクス解析を駆使して明らかにすることを旨とする（図1）。運動器の発生から変性までのダイナミクスの全貌解明に迫り、運動器研究・統合運動器学（integrated locomotive science）をより高次元に発展させ、各疾患の制御手段の開発に繋げる。



図1 研究のスキーム

●研究の背景・目的

運動器は骨、軟骨及び筋、腱、靭帯、滑膜など多様な組織から構成され（図2）、生体の運動を担う組織複合体である。運動器は人間では数十年という長期間にわたって運動という高次生体機能を担うが、オーバーユースや外傷による傷害、閉経後の性ホルモンの変化や加齢による変性、そして炎症などによってしばしば機能障害を呈することも知られている。成長期には骨・軟骨・筋といった運動器構成組織が運動して发育することが知られているが、病的な状態においてもこれらの組織変化は運動している。このことは骨粗鬆症（骨）・変形性関節症（軟骨）・サルコペニア（筋）といった運動器の病態が運動して生じるというコホート研究（BMJ Open 2:e001520,2012）からも明らかである。しかしこのような運動は加齢という現象だけでは説明困難であり、各組織のダイナミクスを連携制御する横断的メカニズムの存在が示唆されるが、このような運動器構成組織間の横串ともいえる連携制御機構の解明は進んでいない。

本研究の目的は、各運動器組織に存在する細胞の種類や分化ダイナミクスがどのように制御され、異なる組織間で連携しながら統合的な運動器を構築しているのかを解明することである。シングルセル解析やメカノバイオロジーを含む最新かつ多彩な分子細胞生物学的手法と、発現データからゲノム・エピゲノムまでの広範なバイオインフォマティクス技術を融合した統合研究であり、疾患の病態学に加えて発達生物学、免疫学の観点を要し、培養細胞から実験動物、ヒト臨床サンプルを研究対象としている。運動器のシステムを理解するためにはこうした要素が全て必要となるが、各専門分野のエキスパートからなる本研究では、研究者間の連携を綿密に取りながら、最新の研究ツールを駆使して運動器研究をより高い次元に高める。

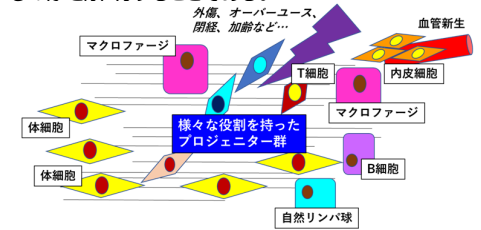


図2 関節の構成細胞と細胞間クロストーク

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

本研究ではプロジェクターのダイナミクス制御における力学的負荷（メカニカルストレス）の役割解明を目指す。研究代表者らはこれまでに、過剰な力学的負荷がNF-κBシグナルの過剰活性化と下流転写因子HIF-2αの不適切な発現誘導を経て軟骨変性をもたらすメカニズムを解明してきた（Nat Med 16:678,2010, Nat Commun 7:13336,2016, Nat Commun 10:1442,2019）。また軟骨・滑膜表面の細胞に存在するメカノセンサー-Trpv2が潤滑性を分子として知られているルプリシン(Prg4)の発現を誘導し、Prg4が潤滑性のみならずシグナル分子としてプロジェクターの維持に貢献することを報告した（Arthritis Rheumatol 73:1441, 2021, J Bone Miner Res 36:792,2021）。また、尾部懸垂および関節固定によって関節にかかる力学的負荷を最小限にしたマウスモデルを開発し、力学的負荷の免除により生じる骨、軟骨や滑膜の変化を解析した。これらの研究結果から本研究では、「メカニカルストレスが様々な運動器においてプロジェクターダイナミクスの統合的な制御を介して運動器恒常性や病態に関与する横串である」可能性を追求して解析を進める。

本研究ではこれまでの免疫細胞に焦点を当てた研究から、体細胞やプロジェクター、各組織に存在する全ての細胞を対象にした研究に拡大するとともに、骨、軟骨、滑膜に加え、腱・靭帯も解析対象とする。また疾患のみならず、発達、維持、修復、変性を一連の現象と捉え、これらの変遷の中で運動器構成細胞群がどのように変化するのか、力学的負荷の変化や加齢、閉経によって各組織の細胞にどのような影響を与え、どのような遺伝子発現変化をもたらすのか俯瞰的に理解することを目指す。具体的には研究スキームの図の通り、各サブテーマに沿って行う（図1）。

- ① 運動器の発達
- ② 運動器の維持
- ③ 運動器の修復と変性
- ④ 痛みの修飾

軟骨内骨化にコミットするプロジェクターとしていくつかのマーカーが報告され、骨格幹細胞という概念が提唱されているが、それらの局在や起源はまだよく分かっていない。本研究ではマウス胚、ヒト手術サンプルのほか、ヒトES細胞を用いたin vivo骨形成モデルを用いて組織に含まれる細胞のシングルセル解析を進め、免疫組織染色などによる空間的発現情報も加味しながら、プロジェクター群の種類と部位を同定し、各組織が成熟していく中でどのように分化し、周囲の免疫細胞群とクロストークするか、異なる組織間でどのように連携するかを明らかにする。また、運動器は絶えず力学的負荷に晒されており、過度のストレスは直接組織を障害しうるほか、頻回のストレスも慢性炎症を惹起して組織を変性させるが、一方でストレスが消失しても変性は生じ、「適度に」力学的負荷を受けることが運動器の維持に不可欠である。これまでに運動器のメカノバイオロジー研究の中で、in vivoではトレッドミルや尾部懸垂・関節固定モデルを、in vitroでは市販の細胞伸展装置、シアストレス負荷装置のほか、独自開発の周期的静水圧負荷装置も活用してきた。これらのデバイスをマウス・ラットや手術検体由来のヒト組織・細胞に応用し、複数の典型的な条件下で各運動器のシングルセルベースの解析を進める。海外の大規模GWASデータとも照合して、実際の疾患に関わるゲノム領域を絞るとともに、疾患感受性多型/遺伝子が影響を及ぼす組織、細胞種、サブセットを同定し、様々な干渉実験によって、運動器疾患の予防や治療に繋がる新規疾患修飾手段を確立する。