



岡山大学記者クラブ
文部科学記者会
科学記者会 御中

令和 5 年 3 月 17 日
岡 山 大 学

ヒト iPS 細胞由来肢芽間葉系細胞を用いた新規軟骨細胞シートの作製に成功

◆発表のポイント

- ・ヒト iPS 細胞 2 株から、四肢軟骨細胞の基になる肢芽間葉系細胞 (ExpLBM) を誘導し、細胞シート技術と組み合わせることで新規軟骨細胞シートを作製しました。
- ・ExpLBM 由来の細胞シートは硝子軟骨マーカーである Type II コラーゲンやアグリカンを発現し、免疫不全ラットの膝関節軟骨欠損部への生着・再生を確認しました。
- ・ExpLBM 由来軟骨細胞シートは、将来的なヒト関節軟骨疾患の治療マテリアルになると期待されます。

岡山大学学術研究院医歯薬学域 (医学系) の高尾知佳講師、宝田剛志教授、尾崎敏文教授、中田英二特任准教授らと東海大学医学部の佐藤正人教授、豊田恵利子特任准教授の研究グループは、細胞シート工学と、ヒト iPS 細胞由来肢芽間葉系細胞 (ExpLBM) を組み合わせた、新規ヒト軟骨細胞シートの作製に成功しました。ExpLBM は軟骨形成能を維持したまま、安定的に拡大培養が可能であることから、細胞工学的加工に適した細胞です。今回作製した ExpLBM 由来ヒト軟骨細胞シートは、日本人の約 40% をカバーする HLA ホモドナー由来 iPS 細胞株を使用しても作製できたことから、今後再生医療への応用が期待されます。成果は 2023 年 2 月 24 日、国際科学誌「*Stem Cell Research & Therapy*」の Short report として掲載されました。

◆研究者からのひとこと

当研究室で開発したヒト iPS 細胞から誘導した四肢軟骨細胞の基になる拡大培養可能な肢芽間葉系細胞 (ExpLBM) を用いて新規軟骨細胞シートの作製に成功しました。この結果から、ExpLBM が組織工学的加工の可能な細胞であることを示すことが出来ました。将来的にこの ExpLBM 由来軟骨細胞シートが臨床応用できることを期待しています。



高尾講師



PRESS RELEASE

■発表内容

<現状>

変形性関節症（膝 OA）は罹患率の高い疾患であるのに対し、疾患そのものの進行を抑制する薬はなく、対症療法としての鎮痛薬の投与が治療の主軸となっています。根治的な治療方法として、軟骨破壊抑制薬や軟骨組織再生薬などの開発はなかなか進んでいません。私たちは、ヒト iPS 細胞から軟骨分化能を維持した状態で拡大培養が可能なヒト肢芽間葉系細胞（Expandable Limb bud mesenchyme cells : ExpLBM）^[1]を誘導することに成功しました（*Nature Biomedical Engineering*, 2021）。この細胞は CD 抗原による軟骨形成能の前向きな品質評価ができ、さらに凍結保存が可能なため、組織工学的な加工を施すことに適しています。現在、膝 OA の有望な治療方法の一つとして、多指症患者由来の軟骨細胞や自家軟骨を用いた軟骨細胞シートが開発されています（*Inflamm Regen*, 2017）。この「細胞シート工学」と自身らがヒト iPS 細胞より誘導に成功した「ExpLBM」を用いて、新規軟骨細胞シートを開発することが出来れば、再生医療へ応用可能なマテリアルになると考えました。

<研究成果の内容>

まず、2 株のヒト iPS 細胞（414C2 ヒト iPS 細胞株、Ff-KVs09 HLA ホモドナー由来 iPS 細胞株^[2]）を用いて ExpLBM を誘導し拡大培養しました。ExpLBM から平面培養下で軟骨細胞へと分化誘導し、その後、温度応答性ポリマーがコーティングされた培養資材に播種し培養を行い、ExpLBM 由来の細胞シートを作製しました（図 1A）。この細胞シートは、硝子軟骨組織マーカーである、TypeII コラーゲンやアグリカン陽性、SafraninO 陽性の硝子軟骨様の性質を有する軟骨細胞シートであることが明らかとなりました（図 1B）。この ExpLBM 由来軟骨細胞シートを免疫不全ラットの膝関節軟骨欠損部に移植することで、ヒト由来の軟骨組織の生着と再生を確認することができました（図 1C）。

<社会的な意義>

軟骨細胞シート技術は、自家軟骨や多指症患者由来の軟骨細胞から作られたことはこれまで報告されてきました。本研究では、ヒト iPS 細胞由来の ExpLBM から軟骨細胞を誘導し、TypeII コラーゲンやアグリカン陽性の新規ヒト軟骨細胞シートの開発に成功しました。ExpLBM は軟骨形成能を維持したまま、安定的に拡大培養が出来ることから、ヒト軟骨細胞シートの大量生産を安定的に供給できる可能性があります。今後、ExpLBM 由来のヒト軟骨細胞シートが膝関節軟骨疾患における新規の再生医療マテリアルになることが期待されます。

■論文情報

論文名 : A novel chondrocyte sheet fabrication using human-induced pluripotent stem cell-derived expandable limb-bud mesenchymal cells

掲載紙 : Stem Cell Research & Therapy

著者 : Tomoka Takao, Masato Sato, Yuki Fujisawa, Eriko Toyoda, Daisuke Yamada, Yukio Hitsumoto,



PRESS RELEASE

Eiji Nakata, Toshifumi Ozaki & Takeshi Takarada

D O I : 10.1186/s13287-023-03252-4

U R L : <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-023-03252-4>

■研究資金

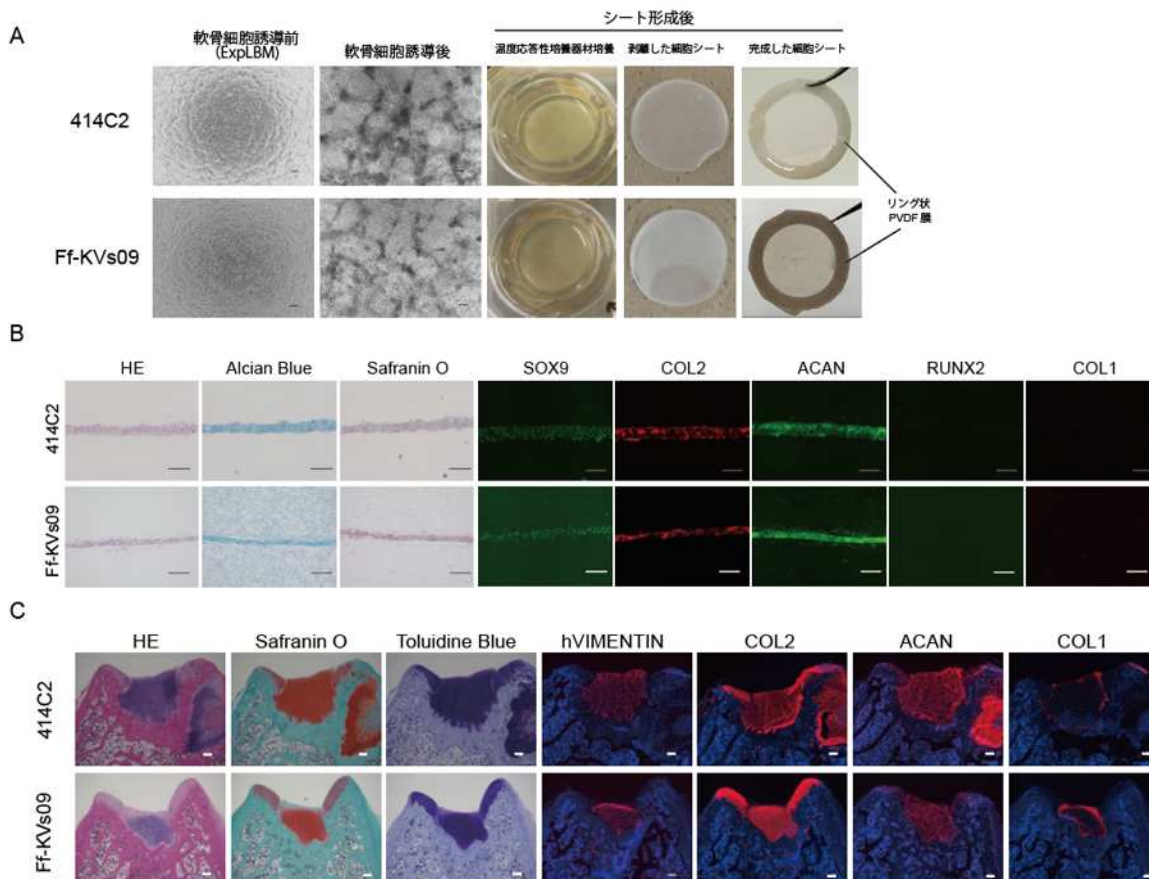
本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）（18bm0704024h0001、橋渡し研究シーズ A；JP201m0203008、JP211m0203008）、科学研究費補助金（基盤研究 B；21H02643）などの支援を受けて実施しました。

■補足・用語説明

[1] 拡大培養可能な肢芽間葉系細胞（Expandable limb bud mesenchymal cells; ExpLBM）：四肢の発生過程で一時的に出現する肢芽（Limb bud）に局在する細胞をヒト iPS 細胞から誘導し、拡大培養可能にした細胞。

[2] HLA ホモドナー由来 iPS 細胞株：HLA-A、HLA-B、HLA-DR をいずれもホモ接合体にもち、日本国内で頻度の高い HLA 型の健常人ボランティアの末梢血あるいは臍帯血に含まれる細胞から作製した iPS 細胞。日本人の約 40% をカバーし、臨床研究や治験にて使用された実績のある細胞株もある。

図 1





PRESS RELEASE

図 1: ヒト iPS 細胞由来 ExpLBM から作製した新規軟骨細胞シート

(A) ヒト iPS 細胞から誘導した ExpLBM から軟骨細胞を誘導し、細胞シートを作製しました。

(B) ExpLBM 由来の細胞シートを HE 染色、アルシアン ブルー染色、サフラニン 0 染色、または SOX9、COL2、ACAN、COL1、および RUNX2 に対する抗体で染色を行い、硝子軟骨様の性質を有する軟骨細胞シートであることを確認しました (スケール 200 μm)。

(C) 免疫不全ラット膝関節軟骨欠損部への移植の 4 週間後の組織切片を H&E、サフラニン 0、トルイジン ブルー、またはヒト VIMENTIN、COL2、ACAN、COL1 に対する抗体で染色し、欠損部へのヒト細胞由来の軟骨組織の生着・再生を確認しました (スケール 200 μm)。

<お問い合わせ>

岡山大学学術研究院医歯薬学域(医)

組織機能修復学分野 教授 宝田剛志

講師 高尾知佳

(電話番号) 086-235-7407

(FAX) 086-235-7412



岡山大学
OKAYAMA UNIVERSITY



岡山大学は持続可能な開発目標 (SDGs) を支援しています。