

13) 関節軟骨表層損傷に対する細胞治療における基礎研究(2)

研究代表者 阿部 里見

[はじめに]

関節軟骨は、自己修復能力に乏しい組織であり、損傷すると変性による関節症をひき起こす。特に若年者の外傷性変形性関節症は、関節外科医にとって最大の治療課題となっている。

関節軟骨の全層欠損に対しては、(1)間葉系幹細胞(MSC)を誘導する Microfracture 法、(2)自家骨軟骨移植、(3)自家培養軟骨細胞移植、(4) Scaffold を用いる方法が治療に用いられている。完全な硝子軟骨に regenerate (再生) できないものの、これらの方法により、線維軟骨で repair (修復) することはでき、臨床的には安定した中期成績が得られている。日本では、(1)(2)が主流であり、(3)は限られた施設のみでしか行う事ができない。欧米では(3)の他、scaffold に関節軟骨細胞や骨髄、滑膜、脂肪由来 MSC を同時に移植する

cell based tissue engineering が盛んに行われている。しかし、培養する細胞数に限界があることや、培養するまでの長い待機期間、二期的手術の必要など、問題もある。

一方、関節軟骨の表層損傷に対しては、現在、有効な治療手段がない。

本研究の最終目的は、関節軟骨表層の部分損傷に対する同種細胞を用いた cell based tissue engineering を検討することにある。

関節軟骨細胞は MSC より分化する。MSC は骨髄のみならず関節内の組織である滑膜、脂肪、半月などにも存在することが知られている。これまで我々は、関節軟骨細胞が in vitro において免疫学的に寛容であり、活性化したリンパ球の増殖をも抑制する特性を有することを報告してきた。このような免疫学的特性は、MSC においても報告がなされており、我々は間葉系の細胞に共通して保持された特性ではないかと考え、関節軟骨と MSC の免疫特性について比較検討してきた。

関節軟骨や MSC の持つ免疫特性は、同種細胞移植への可能性を秘め、細胞数や二期的手術の問題を解決することにつながる。また、関節内への細胞移植時の、炎症性細胞遊走や炎症性サイトカイン産生抑制に関与し、移植細胞の生着や移植細胞分化にプラスに働くと推測される。

[目的]

関節軟骨細胞と骨髄、半月、滑膜、脂肪組織由来の mesenchymal stromal cell の免疫特性を In Vitro で比較し、また、同種免疫反応時に、これらの細胞が産生する炎症性サイトカインを比較検討することである。

[方法]

文書にて同意を得て、手術時に破棄される関節内組織から、軟骨細胞や、骨髄、滑膜、脂肪、半月より mesenchymal stromal cell を単離、培養、増殖させた。フローサイトメトリーを用い、其々の細胞の表面抗原を調べた。ヒト同種リンパ球増殖試験を、上記培養細胞有無の条件下に行った。この時、各 mesenchymal stromal cell からの炎症性サイトカイン MMP-3 の産生量を ELISA にて測定した。

[結果]

フローサイトメトリー試験において、全ての培養細胞群の細胞表面に、MSC と同様の表面抗原の発現、CD34(-)、CD45(-)、CD80(-)、CD86(-)、CD73(+)、CD90(+)、CD105(+)、CD166(+)、CD44(+)の発現パターンを認めた。ヒト同種リンパ球増殖試験を、上記培養細胞の存在下に行った場合、全ての細胞で、ヒト同種リンパ球増殖を抑制した。統計学的差異は認めなかった。この時、共培養した上記培養細胞からの MMP-3 産生量は、統計学的有意差をもって増加した。

[考察]

これらの結果は、免疫学的寛容の特性のみならず、上記培養細胞のもつ immunomodulatory effect の存在を示唆している。また、今回の結果より、いわゆる間葉系由来細胞といわれる細胞は、共通した免疫特性を維持しつつ分化している可能性がある事を示唆した。

更に、関節軟骨損傷における細胞治療において、その Cell Source として、関節内の様々な組織が、利用可能である可能性を示唆した。損傷部位の観察時に、同一創を用いて Cell Source を確保できるため、より実用的に発展できる可能性があると考えられた。

しかし、同種リンパ球増殖試験時に、軟骨細胞、骨髄・滑膜・脂肪・半月由来細胞から、炎症性サイトカインである MMP-3 の産生が増加した。これは、同種細胞移植時、移植細胞の細胞分化に対して Catabolic な反応を惹起する可能性を示唆しており、免疫寛容特性を生かした同種細胞治療を安易にすすめるべきではないと考えられた。