

宮本 力 論文内容の要旨

主 論 文

Osteogenic protein-1 with transforming growth factor- β 1: potent inducer of chondrogenesis of synovial mesenchymal stem cells in vitro

Osteogenic Protein-1 は TGF- β 1 による滑膜由来間葉系幹細胞の軟骨化作用を促進する

宮本 力 松本智子 崎村幸一郎 進藤裕幸

Journal of Orthopaedic Science • 12 巻 6 号 555-561 2007 年 [7 ページ]

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学 専攻
主任指導教員：進藤裕幸教授

【緒言】 関節軟骨を修復させるために間葉系幹細胞を軟骨に分化させる方法がおこなわれており、滑膜もその細胞源として注目されている。トランスフォーミング成長因子(TGF)- β 1 は、滑膜由来の間葉系幹細胞を軟骨分化させることが報告されているが、関節軟骨として機能するためには豊富な軟骨基質を産生することが重要であり、TGF- β 1 だけでは不十分である。軟骨修復を促進する成長因子として、骨形成因子(BMP)が注目されている。なかでも Osteogenic protein(OP)-1 は、骨形成促進因子として臨床的に用いられているが、関節軟骨にも発現しており軟骨代謝に関与していることが知られている。今回、滑膜由来間葉系幹細胞の軟骨分化に対する OP-1 の影響について調べた。

【対象と方法】 人工膝関節置換術時に採取した関節リウマチ患者の滑膜から細胞を遊離し単層培養した。継代 3 代後の細胞を用いて遠心管培養を 3-6 週間おこなった。培養液は血清無添加で軟骨分化基礎培地を使用し、TGF- β 1(10 ng/ml)と OP-1(100-200 ng/ml)は遠心管培養初日より単独または同時に投与し、培養液交換の度に添加した。対照にはどちらも添加せず軟骨分化基礎培地のみとした。培養 3 週目と 6 週目に形成されたペレットを取り出し、RT-PCR、サフラニン O 染色、グリコサミノグリカン(GAG)量および DNA 量の測定をおこなった。GAG 量の測定はジメチレンブルー(DMB)法でおこない、DNA 量の測定には Hoechst 33258 dye 法を用いた。GAG の産生量は細胞数の増加を考慮して GAG/DNA で示した。

【結果】 培養 3 週目でどの処置群とも II 型コラーゲンとアグリカン mRNA の発現を認め、軟骨分化が示唆された。しかし、3 週目のサフラニン O 染色では基質の産生は不十分であり、TGF- β 1 と OP-1(200 ng/ml)の同時投与のみが軽度染色性が増加していた。培養 6 週目では OP-1(200 ng/ml)は単独でも GAG 量を増加させたが、TGF- β 1 と同時投与することによりさらにその量を増加させ、TGF- β 1 単独投与よりも GAG の産生量は高値を示した。培養 6 週目において、OP-1 単独投与と、TGF- β 1 との同時投与の組織像を比較すると、TGF- β 1 との同時投与では豊富な軟骨基質に埋もれた軟骨様細胞がみられたのに対し、OP-1 単独投与では肥大化した細胞と、基質部に X 型コラーゲンの存在が免疫染色で認められた。

【考察】 OP-1 は滑膜由来間葉系幹細胞の軟骨分化を誘導した後、さらに肥大軟骨細胞へと分化を進めた。これは内軟骨性骨化の過程では重要なステップであるが、関節軟骨修復には弊害となる。一方、TGF- β 1 と OP-1 を同時投与することで肥大軟骨細胞化はみられず、基質の産生が著増し、TGF- β 1 が OP-1 より誘導される肥大軟骨細胞化を抑制していることが推察された。OP-1 と TGF- β 1 を同時投与することで、滑膜由来間葉系幹細胞の軟骨分化が著しく促進されることがわかり、今後関節軟骨の修復作用の 1 つとして期待される。