

骨修復において幹細胞が働くメカニズムを解明

間葉系幹細胞（MSCs）は、骨髄、脂肪細胞、歯髄などに存在しており、骨、軟骨、脂肪組織などの細胞に分化する組織幹細胞の一つです。その多分化能や組織再生能から、再生医療のツールとして注目されていますが、MSCs の生体内での動態や分化能については未だ不明な点が多く、治療の有効性や作用機序が不明確なまま、臨床応用が先行しているケースもあります。より安全で効果的な再生医療の実現のためには、組織修復・再生における生体内での MSCs の動態の解明が望まれています。

本研究グループは、これまでに、MSCs に強く発現する酵素分子 CD73 に着目し、CD73 発現細胞を蛍光標識したマウスを作製しています。今回さらに、骨髄中で幹細胞を維持する微小環境（ニッチ）が再構築される際のメカニズムを明らかにしました。

このマウスから CD73 陽性 MSCs と CD73 陰性 MSCs を単離し、性質を比較したところ、CD73 陽性 MSCs は、生体外において高い増殖能と骨・軟骨細胞への分化能を持つことが分かりました。また、マウス大腿部に骨折を作製し、骨修復における CD73 陽性 MSCs の動態解析より、CD73 陽性 MSCs は骨折部位に遊走し、骨芽細胞や軟骨細胞に分化し、積極的に組織修復に関わっていることが判明しました。一方、CD73 陽性血管内皮細胞は、骨修復中期に骨折部位に観察され、周囲には造血幹前駆細胞が集積し、ニッチの再構築に働いていました。以上のことから、CD73 発現細胞はニッチの再構築に重要な役割を示すことが明らかとなりました。

本研究成果は、CD73 陽性 MSCs を標的とした骨疾患への新たな治療法の開発につながると期待されます。

研究代表者

筑波大学生存ダイナミクス研究センター

木村 健一 助教

研究の背景

間葉系幹細胞（MSCs）は、骨髄、脂肪細胞、歯髄などに存在しており、骨、軟骨、脂肪組織などの細胞に分化することができる組織幹細胞の一つです。近年、MSCs は、その多分化能や組織再生能から再生医療のツールとして注目され、虚血性疾患、脊髄損傷、骨疾患治療への実用化に向けて研究が進んでいます。しかし、組織修復・再生における MSCs の動態や分化能については未だ不明な点が多く、治療の有効性や作用機序が不明確なまま、臨床応用が先行しているケースも少なくありません。そのため、より安全で効果的な再生医療の実現のため、MSCs の生体内での動態の解明が望まれています。

MSCs は生体内で特殊な微小環境（ニッチ）によって保持されています。その一つとして知られる骨髄ニッチは、類洞血管内皮細胞、造血細胞、周皮細胞などにより形成され、さまざまな液性因子、サイトカイン、細胞間接着により緻密に制御されています。本研究チームはこれまでに、MSCs に強く発現する酵素分子 CD73 に着目し、CD73 発現細胞を蛍光標識したマウスを作製しました。このマウスは、骨髄ニッチにおいて MSCs のみならず、ニッチの中心を成す類洞血管内皮細胞を選択的に標識しますが、これらの CD73 発現細胞がどのように組織障害に応答し、ニッチの再構築に関わるかは明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、まず、このマウスから CD73 陽性 MSCs と CD73 陰性 MSCs を単離し、性質を比較しました。細胞表面マーカーの発現を調べると、これらはいずれも MSCs に特徴的なマーカーを発現しており、大きな差は見られませんでした。一方、細胞増殖や分化能を解析すると、CD73 陽性 MSCs は CD73 陰性 MSCs と比較して、生体外における高い増殖能と骨・軟骨細胞への分化能を持つことが分かりました（図 1）。次に、このマウスの大腿部に骨折を作製し、骨修復における CD73 陽性 MSCs の動態を解析しました。術後 4 日目には、骨折部位に遊走した CD73 陽性 MSCs が多数観察され、その後、この細胞は骨芽細胞や軟骨細胞に分化し、積極的に組織修復に関わっていました（図 2 左）。また、CD73 陽性血管内皮細胞は、骨修復中期になると骨折部位において観察され、周囲には造血幹前駆細胞が集積し、ニッチの再構築に働いていました（図 2 右）。さらに、CD73 陽性 MSCs と CD73 陰性 MSCs を野生型マウスの骨折部位に移植し、組織再生能を評価したところ、移植された CD73 陽性 MSCs は骨折部位で骨・軟骨へと分化し、骨修復を促進することが分かりました（図 3）。以上のことから、CD73 発現細胞は、骨損傷時のニッチの再構築に重要な役割を果たすことが明らかとなりました。

今後の展開

今回の研究成果に基づき、今後は、MSCs や類洞血管内皮細胞において、どのような機序で CD73 発現が細胞の生理機能に影響を与えているかについて調べていく予定です。また、CD73 はヒト MSCs にも発現しており、今後、ヒト CD73 陽性 MSCs を用いた骨疾患への新たな治療法の開発が期待されます。

参考図

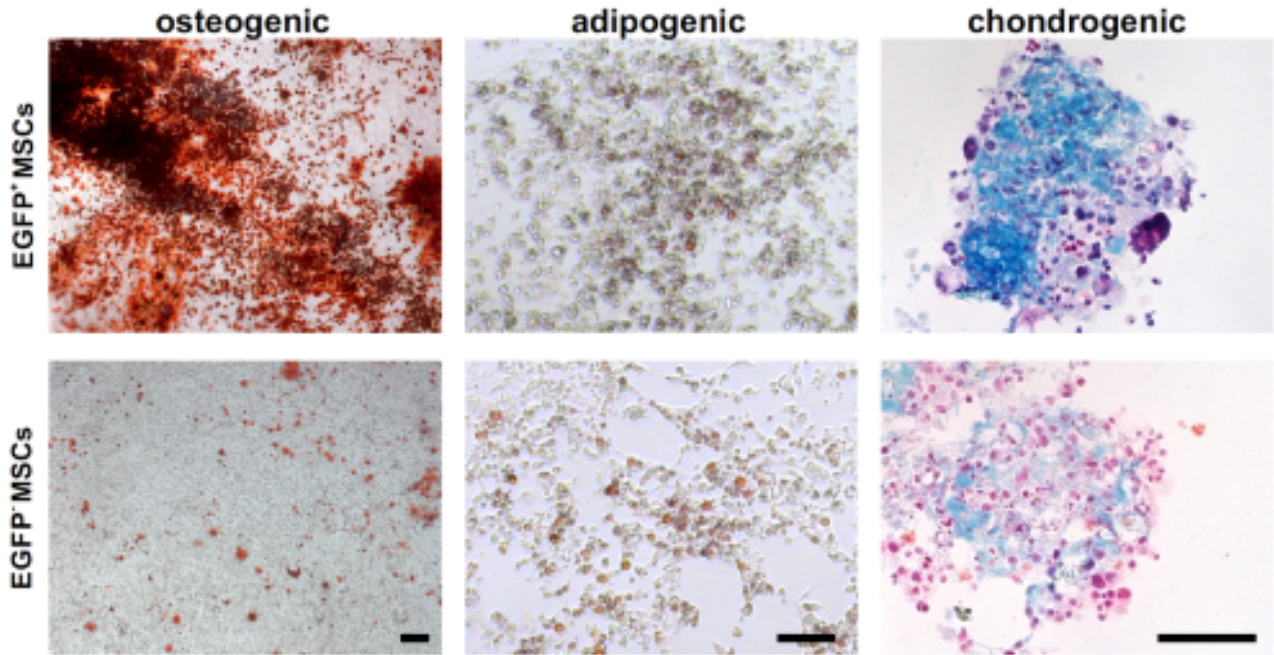


図1 CD73 陽性・陰性 MSCs の分化能の比較

CD73 陽性 MSCs (上段) は CD73 陰性 MSCs (下段) に比べ、脂肪細胞への分化能に差異は見られないが (中列)、骨分化能 (左列、赤色が骨芽細胞) および軟骨分化能 (右列、青色が軟骨細胞) が高い。(スケールバー: 100 μm)

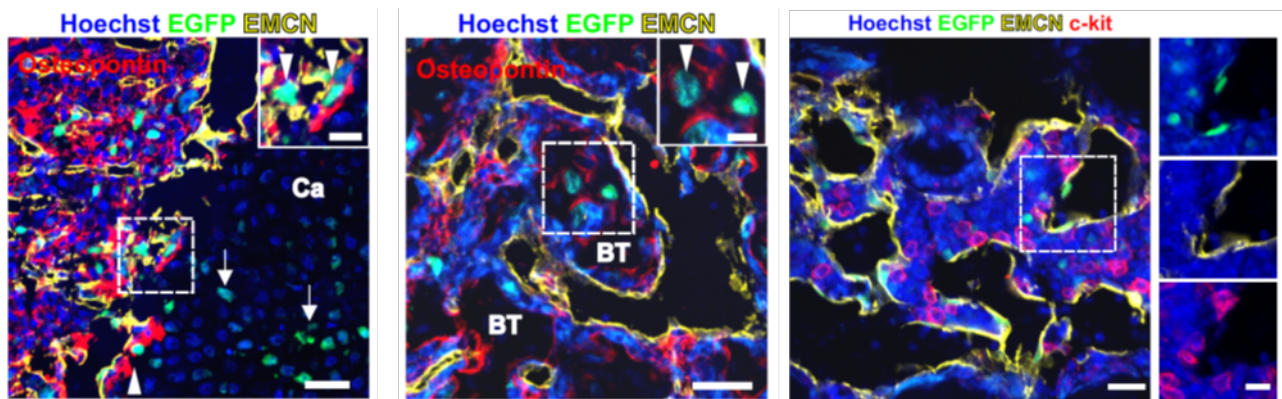


図2 マウス骨折モデルを用いた CD73 発現細胞の骨修復への寄与の評価

術後 7 日目の骨折部位の様子 (左図)。CD73 陽性 MSCs は骨折部位の新生軟骨 (Ca) 周囲に遊走し (左図、矢頭)、一部の細胞は軟骨細胞へと分化し、新生軟骨形成に寄与している (左図、矢印)。術後 14 日目の骨折部位の様子 (中図)。CD73 陽性 MSCs は骨修復中期に見られる海綿骨 (BT) の形成に寄与している (中図、矢頭)。一方、術後 14 日目の仮骨の一部には新生骨髄が形成されており (右図)、新生骨髄内には CD73 を発現する血管が観察され (右図、緑色)、周囲には造血幹前駆細胞が集積し (右図、赤色)、骨髄ニッチの再構築が行われている。(スケールバー: 25 μm 、拡大図: 10 μm)

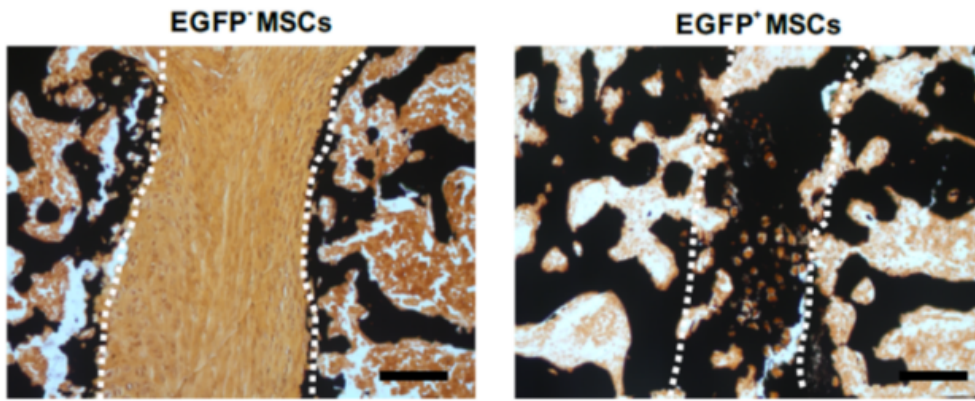


図3 移植された CD73 陽性 MSCs の骨修復能の評価

細胞移植後 28 日目の骨折部位 (点線に挟まれた部分) の様子。骨折部位に移植された CD73 陽性 MSCs 群 (右図) は CD73 陰性 MSCs 群 (左図) に比べ、骨折部位における新生骨の形成が進んでいる (黒色部分)。(スケールバー: 100 μ m)

研究資金

本研究は、The German Research Foundation、上原記念生命科学財団、先進医薬研究振興財団、テルモ生命科学振興財団、他の研究プロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Bone marrow CD73+ mesenchymal stem cells display increased stemness in vitro and promote fracture healing in vivo

(骨髄由来 CD73 陽性間葉系幹細胞は高い幹細胞性を有し、骨修復に寄与する)

【著者名】 Kenichi Kimura, Martin Breitbach, Frank A. Schildberg, Michael Hesse, Bernd K. Fleischmann

【掲載誌】 Bone Reports

【掲載日】 2021 年 9 月 29 日

【DOI】 10.1016/j.bonr.2021.101133

問い合わせ先

【研究に関すること】

木村 健一 (きむら けんいち)

筑波大学生存ダイナミクス研究センター 助教

URL: <https://www.saggymousehkytsukuba.com/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp