

関節の軟骨組織の再生と自家移植

山 本 進二郎

関節の軟骨組織は骨と骨との間に存在し、常に運動によって生じる衝撃を吸収しながら、関節の円滑な動きを助ける役割を果たしている。軟骨組織は、Ⅱ型コラーゲンやプロテオグリカンなどの細胞外マトリクスで囲まれた単一の軟骨細胞からなる。血管はなく、酸素や栄養分は軟骨組織の表面に存在する滑液から供給される。滑液の栄養分は血液とほぼ同じだが、酸素分圧が空気中の1/3～1/21程度である。いったん組織が損傷すると、酸素の供給が充分でないことや常に衝撃にさらされていることなどからほとんど再生しない。世界的には数百万以上、日本でも数十万の人々が、物理的な衝撃や炎症などを原因とした軟骨組織の欠損で苦しんでいる。現在、膝軟骨の欠損に伴う病気が日本でも増加傾向にあり、その原因として肥満や加齢などが指摘されている。今後、高齢化する日本ではさらに増加が予想され、有効な対処法を考えておく必要がある。

軟骨組織を補うために生分解性ポリマーを利用する技術の開発や金属などを用いて物理的に損傷部を補う人工関節の導入が行われている。²⁾ 生体適合性ポリマーでは、生体由来の材料や生分解性ポリマーが研究されている。金属を用いた人工関節は即効性はあるが、機械的なゆるみが生じる可能性があり長期間の安定性が必ずしも得られていない。長期的に安定な軟骨組織を維持するためには、自己由来の組織の移植（自家移植）が望まれる。生体内に残存する組織を少量取り出して必要量の組織を生体外で増加・再生させる技術の開発が期待されている。

軟骨細胞が組織を形成するためには、コラーゲンやアグリカンの発現型（フェノタイプ）などが不可欠である。生体内の軟骨細胞はⅡ型コラーゲンを発現するが、組織から分離した細胞を従来の空気存在下で継代培養するとそのフェノタイプを急速に失い、Ⅱ型からⅠ型・Ⅲ型へのコラーゲンの発現の変化やアグリカンの発現の消滅などが知られている。³⁾ Ⅰ型コラーゲンは骨の主要なコラーゲンであり、表面が粗くて弾性のない硬い特徴をもつ。Ⅱ型コラーゲンは弾性がある表面が滑らかで柔らかく、それが関節の円滑な動きを可能とするため、軟骨組織にはⅡ型コラーゲンの発現が不可欠である。また、生体内での軟骨細胞は球状であるが、単層状に培養した場合には繊維芽細胞様になることから、フェノタイプの維持には細胞形態の重要性も指摘されている。

Lemare ら⁴⁾ は、初代細胞を単層培養したものをゲル培養に用いてフェノタイプの発現に及ぼす継代培養の影

東京工業大学生命理工学部生命工学科（助手）

〒226-8501 横浜市緑区長津田町4259

Tel: 045-924-5764 Fax: 045-924-5818

E-mail: syamamot@bio.titech.ac.jp

http: <http://www.bio.titech.ac.jp/~hunno/new/>

1994年 東京工業大学理工学研究科博士課程修了、工学博士

現在の興味：組織再生、環境修復

響を検討している。初代の軟骨細胞を単層状に培養した後ではフェノタイプの発現は消失したが、軟骨細胞をアルギン酸に固定した三次元のゲル培養によってフェノタイプが回復したと報告している。ゲル培養での軟骨細胞は、2回の継代後の5日間の培養でⅡ型コラーゲンやアグリカンの mRNA が再び発現して、14日の培養後ではほとんどがⅡ型コラーゲンの mRNA に変化していた。8日の培養後ではⅡ型コラーゲンの生成を認めている。一方、Ⅰ型とⅢ型のコラーゲンの発現を抑制するには2週間の培養が必要なものも明らかにしている。また、ゲル培養の間、軟骨細胞は球状を維持していた。

Lemare らの研究結果は、いったんフェノタイプが消失してもゲル培養によって所定（約2週間）の時間がフェノタイプの回復に必要なことを示している。また、ゲル状の基質を用いた細胞の固定が、細胞形態の維持とフェノタイプの発現に重要であることを示している。しかしゲル培養では細胞増殖は小さいことから、実際の移植用に利用するには、より多くの細胞数と細胞外マトリクスを生産させる必要がある。組織から分離した軟骨細胞を継代培養すると、増殖速度が増加することが知られている。したがって、移植用の軟骨組織を調整するためには以下のようなプロセスが考えられる。

軟骨細胞の継代培養→(十分な細胞量を取得)→ゲル培養→(フェノタイプの発現)→(細胞外マトリクス産生)→細胞の回収→軟骨組織の形状の調整→移植

また、生体内では軟骨組織は低い酸素分圧にさらされているため、フェノタイプの発現には酸素分圧が大きく関与することが予想される。ゲルを用いた細胞培養では酸素や栄養分の供給が律速となるため、ゲル培養でのフェノタイプの回復は酸素の影響も大きいと考えられる。また、生体内での軟骨組織は常に体重や動きに伴う力が負荷されている部位ゆえ、それらのフェノタイプ発現への影響を検討する必要性を感じる。

自家移植は安全性が高く、今後の有望な方法と思われる。軟骨組織に限らず細胞から組織を形成させる効果的な培養技術の開発が期待される。

- 1) Vunjak-Novakovic, G. *et al.*: *Biotechnol. Prog.*, **14**, 193 (1998).
- 2) 黒澤：ひざの痛みをとる本, p. 142, 講談社(1998).
- 3) Kuettner, K. E. and Schleyerbach, R. (ed): *Articular Cartilage Biochemistry*, p. 219, Raven Press (1986).
- 4) Lemare, F. *et al.*: *J. Cell. Physiol.*, **176**, 303 (1998).