

解禁日時:2020年6月2日(火)午後1時(日本時間)



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY



岡山大学
OKAYAMA UNIVERSITY

プレス通知資料 (研究成果)

報道関係各位

2020年5月28日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「 三次元構造を持つ人工腱様組織の開発 」 — 腱・靭帯損傷への治療応用を目指して —

【ポイント】

- 腱・靭帯特異的転写因子 MKX^{※1}、三次元培養、メカニカルストレス負荷という三条件を組み合わせることによって、新規の腱様組織の作製法の開発を行いました。
- 作製された人工腱様組織には部分的に実際の腱組織と類似した構造が確認されました。
- この研究成果は腱・靭帯損傷への新たな治療法開発の糸口となり得ることが期待できます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生再生医学分野の浅原弘嗣教授、片岡健輔 日本学術振興会特別研究員 PD らの研究グループは、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学分野の成瀬恵治教授ら、米国スクリプス研究所 Martin K. Lotz 教授らのグループとの共同研究で、三次元培養下で周期的メカニカルストレス負荷を課すことで、腱・靭帯様細胞が自律的に腱様の構造を有する組織を構築していくことを新たにつきとめました。この研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)「メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出(研究開発総括:曾我部正博)」における研究開発課題「腱・靭帯をモデルとした細胞内・外メカノ・シグナルの解明とその応用によるバイオ靭帯の創出」(研究開発代表者:浅原弘嗣)、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業 CREST、文部科学省科学研究費補助金ならびに米国国立衛生研究所の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は国際科学誌 *Frontiers in Cell and Developmental Biology* に2020年6月2日午前6時(中央ヨーロッパ夏時間)にオンライン版で発表されます。

【研究の背景】

腱・靭帯は骨と筋、骨と骨を接合する強じんな組織です。腱・靭帯は、その白い外観からも分かるように低血管性の組織です。この低血管性という組織の特性より、腱・靭帯は自然治癒力が低く、その障害は罹患者の QOL を長期間にわたり低下させることが問題となっています。そのため、腱・靭帯の発生過程をより深く理解し、得られた知見を基に新た

な治療法を開発していくことは非常に重要です。

本研究グループにおいては腱・靭帯特異的転写因子 MKX に着目し、その腱・靭帯への発生再生の寄与を研究してきた経緯があります。これまでに得られた知見として、MKX がマウス胎児の発生過程の腱・靭帯の原基となる組織に発現していること、また成体マウスにおいてはアキレス腱、椎間板や歯根膜の機能維持に関与していること、さらに力学負荷に応答して発現が上昇する遺伝子であることを明らかとしました。これらの知見は、転写因子 MKX が腱・靭帯への発生・再生のプロセスに非常に強く貢献していることを示していました。今回は、これらの知見を基に三次元培養下で周期的メカニカルストレス負荷を課すことで腱様の構造を有する人工組織の作製を目指しました。

【研究成果の概要】

研究グループは腱の発生過程に着目し、腱・靭帯特異的転写因子 MKX の定常発現により腱・靭帯様細胞に分化させた細胞に三次元培養下で周期的メカニカルストレス負荷を課すことで、細胞が自律的に腱様の構造を有する組織を構築していく新たな人工組織の作製法の開発を行いました。このような人工組織の作製法は三次元培養した細胞を伸展する細胞伸展装置の開発が必要である複雑な実験手法であることから、これまでその技術的なハードルによって、あまり十分な知見が得られてこなかった経緯があります。今回共同研究者であり、細胞伸展装置の開発において多くの知見を有する岡山大学成瀬恵治教授と共同研究することにより、技術的なハードルをクリアして研究をスタートさせることに成功しました。

今回開発した方法により作製された人工腱様組織は主に1方向に配向性を有する1型コラーゲン^{※2}線維束を組織内部に有しており、組織外部においては主に3型コラーゲン^{※3}より形成される腱鞘様の構造が確認されました。これらの特徴は生体内の実際の腱組織においても特徴的な構造であり、今回我々が開発した方法が生体内の腱の発生過程を部分的に模倣できている可能性を示唆するものでした（図1, 2）。

さらに研究グループでは、この現象が腱・靭帯特異的転写因子 MKX を発現させていない細胞を用いた場合、また周期的メカニカルストレス負荷を課さなかった場合に作製した人工腱様組織では、これらの腱組織様の構造が不完全な状態となっていることを発見し、腱・靭帯特異的転写因子 MKX とメカニカルストレス負荷の組み合わせは個体の発生過程における腱・靭帯組織への寄与のみでなく人工腱様組織作製においても有用であることを明らかとしました（図3）。

図 1

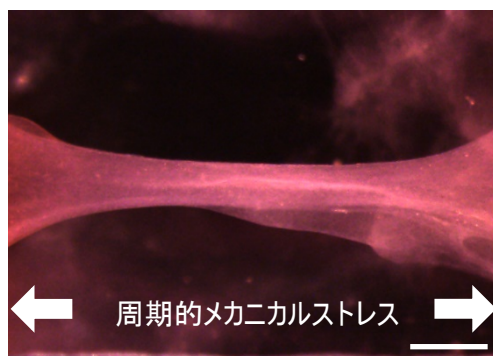


図 1 周期的メカニカルと *Mkx* 発現細胞より作成した人工腱様組織を示す。白の矢印は周期的メカニカルストレス負荷の方向を示す。スケールバーは 1mm を示す。

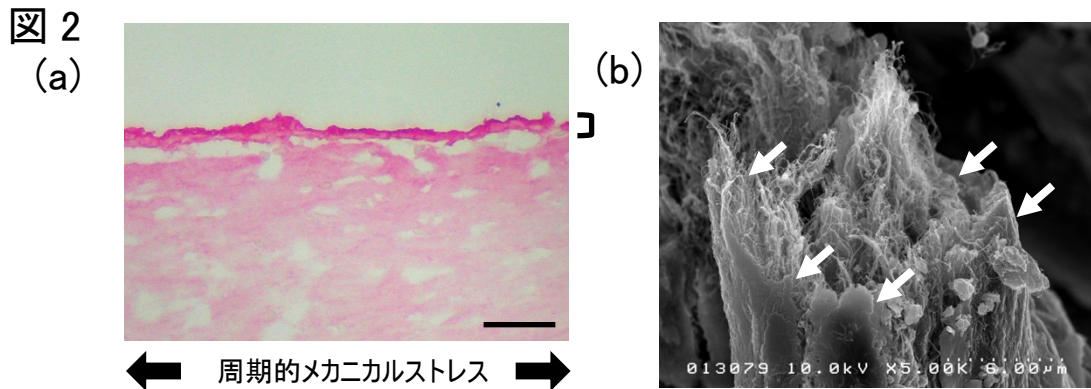


図 2 周期的メカニカルと *Mkx* 発現細胞より作成した人工腱様組織の組織像を示す。(a)凍結切片を作成し、3 型コラーゲンの免疫染色を行った。黒の矢印は周期的メカニカルストレス負荷の方向を示す。人工腱様組織の外周の構造を黒のバーで示す。スケールバーは 100um を示す。

(b)走査型電子顕微鏡像を示す。白の矢印は人工腱様組織の外周の構造を示す。

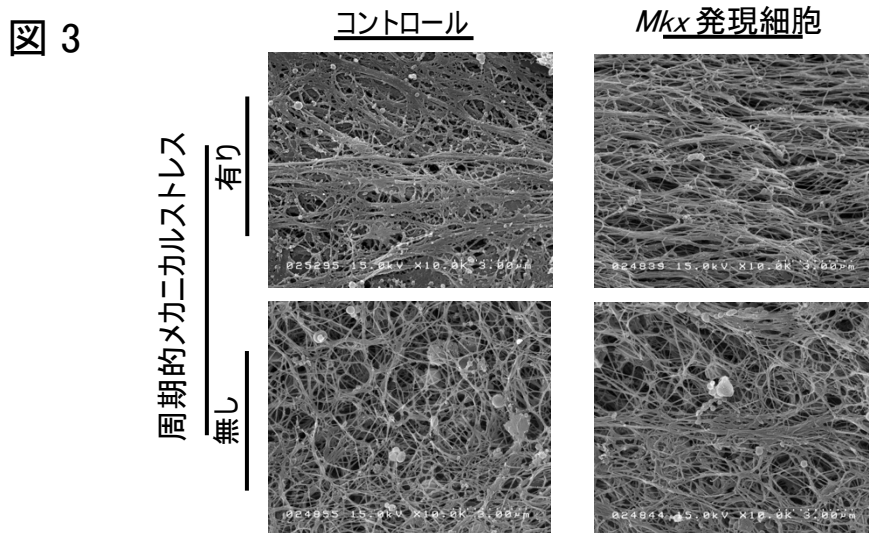


図 3 周期的メカニカルストレスの有無、また *Mkx* 発現細胞使用の有無により生じた 4 種の作成条件における人工腱様組織内部のコラーゲン線維の配向性を走査型電子顕微鏡により観察した。

【研究成果の意義】

本研究においては、腱靭帯特異的転写因子 MKX、三次元培養、メカニカルストレス負荷という三条件を組み合わせることによって、新規の腱様組織の作製法を開発しました。作製された人工腱様組織では、部分的に実際の生体内の腱組織と類似した構造が確認されました。

本研究により明らかにされた人工腱様組織作製方法は、腱・靭帯領域の疾患の新しい医療材料や治療法に発展する可能性が大いに期待されます。

【用語解説】

※¹ 転写因子 MKX

腱靱帯特異的に発現しており、腱靱帯細胞としての機能維持に関連する遺伝子の発現を活性化することにより、腱靱帯の発生・再生過程に関与しているタンパク質。

※² 1型コラーゲン

腱の主たる構成タンパクであり、腱の内部においては一方向に高度に整列している。この整列1型コラーゲンが腱の強度を生じさせている。

※³ 3型コラーゲン

腱靱帯の外部組織である腱鞘において発現しているタンパク質。

【論文情報】

掲載誌: *Frontiers in Cell and Developmental Biology*

論文タイトル: *In vitro neo-genesis of tendon-like tissue by combination of Mohawk and a three-dimensional cyclic mechanical stretch culture system*

【研究者プロフィール】

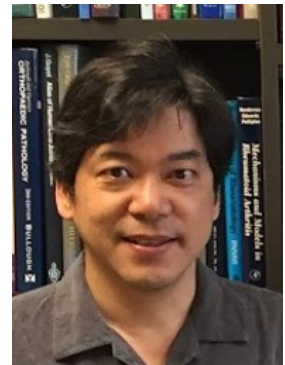
浅原 弘嗣 (アサハラ ヒロシ) Asahara Hiroshi

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

システム発生・再生医学分野 教授

・研究領域

分子生物学(遺伝子発現)、発生・再生医学、整形外科学、リウマチ学



片岡 健輔 (カタオカ ケンスケ) Kataoka Kensuke

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

システム発生・再生医学分野 日本学術振興会特別研究員 PD

・研究領域

発生生物学、整形外科学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

システム発生再生医学分野 氏名 浅原 弘嗣 (アサハラ ヒロシ)

TEL:03-5803-5015 FAX:03-5803-5810

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272