

鮭鼻軟骨プロテオグリカンによる軟骨再生

今 淳¹⁾, 松江 一¹⁾, 山口真範²⁾

1) 青森県立保健大学, 2) 和歌山大学

Key Words ①プロテオグリカン ②軟骨 ③再生

I. はじめに

軟骨に豊富に存在する糖タンパク質のプロテオグリカン(PG)は、軟骨細胞を増殖させて再生を促進する作用や、関節に潤いと弾力性を与えて若々しさを保つアンチエイジング効果を有する。

加齢と共に関節軟骨、特に膝関節軟骨は摩耗して変形する。その結果、変形性膝関節症(OA)が発症し、歩行困難を生じてQOLは著しく低下する。しかも歩行困難は認知症発症の引き金ともなる。従って現代の高齢化社会において、OAを治癒させることは急務である。

OAを完治させる方法は軟骨移植以外に無い。しかし移植用軟骨は拒絶反応を防ぐため患者自身から採取しなければならない。しかし生体の軟骨含量は微量で、十分量を採取するのは容易ではない。従って大量の軟骨細胞を入手する方法を確立しなければならない。

そこで本研究では、この鮭鼻軟骨由来PGを利用して、皮膚の細胞(真皮線維芽細胞)を軟骨細胞に分化転換できるか検討した。

II. 目的

本研究では鮭鼻軟骨PGを用いて皮膚の細胞(真皮線維芽細胞)を軟骨細胞に分化転換できるか検討した。

III. 研究方法

培養ヒト真皮線維芽細胞を様々な濃度の鮭鼻軟骨PGでコートした培養皿でインスリン様成長因子存在下に培養し、細胞数の測定、軟骨マーカーの遺伝子やタンパク質の発現を、real time PCR, ウェスタンブロット法及び免疫染色法により解析した。

IV. 結果・考察

培養皿に各種濃度(0-10 mg/ml)のプロテオグリカンでコートし、そこに培養ヒト真皮線維芽細胞を捲き、細胞毒性の有無を検討した。その結果、3 mg/mlの濃度までのプロテオグリカンをコートした場合には真皮線維芽細胞の細胞数に違いは無かったが、それ以上の濃度では細胞数が減少し、5 mg/ml以上の濃度では細胞が死滅した。そこで3 mg/mlの濃度のプロテオグリカンで培養皿をコートし、そこに真皮線維芽細胞を捲き、インスリン様成長因子を添加して培養した。細胞の形態を観察したところ、7日目までの培養においても、真皮線維芽細胞が軟骨細胞様に分化転換した変化は観察できなかった。そこで、細胞を回収し、mRNAを抽出した後、軟骨マーカー遺伝子及び真皮線維芽細胞マーカー遺伝子の発現をreal time PCRで解析した。その結果、軟骨マーカーのSox9, COL2A1の各遺伝子の発現は認められなかった。また骨マーカーのCOL10A1の発現もなかった。一方、真皮線維芽細胞マーカーCOL1A2の発現は減少していた。以上から、今回の実験結果から、鮭鼻軟骨プロテオグリカンはヒトの関節プロテオグリカンのアグリカンの様に真皮線維芽細胞を軟骨細胞へと分化転換していなかった。可能性としては、この鮭鼻軟骨プロテオグリカンとアグリカンとタンパク質部分が多少異なること、また、グリコサミノグリカン部分の違いも影響

している可能性が考えられた。その一方で、形態学的には軟骨様細胞への変化は認められなかったが、COL1A2遺伝子の発現が減少していたことは線維芽細胞としての性質が変化している可能性も否定できないと思われる。何れにせよ、今後更に培養条件を検討し、分化転換の有無を詳細に観察して行く必要があると考えられた。

VI. 文献

- 1) French MM, Rose S, Canseco J, Athanasiou KA: Chondrogenic differentiation of adult dermal fibroblasts. *Ann Biomed Eng* 32: 50-56, 2004.
- 2) Yamaguchi M, Yamaguchi M, Kojima K, Hayashi N, Kakizaki I, Kon A, Takagaki K: Efficient and widely applicable method of constructing neoproteoglycan utilizing copper (I) catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition. *Tetrahedron Lett* 47: 7455-7458, 2006.

VII. 発表

- 1) Ohshika S, Ishibashi Y, Kon A, Kusumi T, Kijima H, Toh S : [Potential of exogenous cartilage proteoglycan as a new material for cartilage regeneration.](#) *Int Orthop*, 2011(Aug) in press.
- 2) Yamaguchi M, Takagaki K, Kojima K, Hayashi N, Chen F, Kakizaki I, Kon A, Endo M : Novel proteoglycanglycotechnology: chemoenzymatic synthesis of chondroitin sulfate- containing molecules and its application. *Glycoconj J*, 27, 189-198, 2010.

*連絡先：〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: a_kon@auhw.ac.jp