2025 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	**軟骨線維化を制御するマスター因子の解明 －その制御に基づく治療戦略の構築－**
キーワード	①軟骨、②線維化、③脱分化

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏　名	ハギワラ レイコ 萩原　玲子
配付時の所属先・職位等 （令和 7 年 4 月 1 日現在）	藤田医科大学　腫瘍医学研究センター・博士研究員
現在の所属先・職位等	藤田医科大学　腫瘍医学研究センター・博士研究員
プロフィール	2021 年、日本大学大学院生物資源科学研究科博士後期課程修了。博士（生物資源科学）を取得。同年、同大学にて博士研究員として従事。2023 年より現職。藤田医科大学に異動後は、線維化研究の他、がん細胞の低悪性化を誘導する分化制御因子の同定を試みている。

1. 研究の概要

変形性関節症、外傷性関節炎、軟骨肉腫などの多くの軟骨疾患では、軟骨組織の線維化が病態進行の一因とされている。線維化により関節機能が低下し、最終的には軟骨組織の摩耗・破壊へと至るため、その抑制と回復は重要な課題である。しかし、軟骨線維化に対する有効な治療法は未だ十分に確立されていない。軟骨線維化は、軟骨細胞が脱分化し、コラーゲンⅠ型などの線維性基質を産生する線維芽細胞様細胞へ分化転換することで進行する。本研究では、軟骨細胞の脱分化および線維化細胞への表現型転換を制御する分子機構の解明を目的として、初代軟骨細胞の 3 次元培養系を用い、脱分化過程における線維化マーカーおよび軟骨分化マーカーの発現変化、ならびに活性化されるシグナル経路を含めた分子機構の解析を行った。

2. 研究の動機、目的

軟骨組織において、過剰な炎症性サイトカイン、成長因子、酸化ストレスなどが付加されると、線維化が引き起こされ、最終的に軟骨の弾力性や耐圧性が低下し、関節の機能が損なわれるため、変形性関節症、外傷性関節炎および軟骨肉腫などの関節疾患を誘発する。軟骨線維化は、軟骨細胞が脱分化し、線維芽細胞様へ形態変化すると、本来の軟骨特有の基質（コラーゲンII型やアグリカン）ではなく、線維性の基質（コラーゲンⅠ型やIII型）を産生する線維化細胞へと転換し、それが線維化発生の引き金になると考えられている。軟骨組織は、軟骨細胞と多量の軟骨基質から構成される特殊化した組織であることから、損傷部位の自然治癒は期待できず、根本的な治療法は未だなく、軟骨線維化の進展抑制、さらには病態を改善する効果的な治療法の開発が切望されている。また、これまでに、軟骨細胞で発生した線維化細胞の特性については多数の報告があるが、軟骨細胞がどのような分子メカニズムで脱分化し、線維化細胞へ転換するかは未だ明らかにされていない。我々は、マウス前駆軟骨細胞株 ATDC5 を用いた解析により、軟骨細胞の脱分化過程においてアクチン分子の重合化が亢進し細胞骨格の再構築が引き起こされること、またその制御に関わるアクチン動態制御因子の発現が亢進することを見出した。これらの所見から、当該因子、軟骨細胞の脱分化および線維化細胞への

分化転換を誘導するマスター因子として機能する可能性が示唆された。本研究では、軟骨線維化の抑制を標的とした新規治療法の開発を目指し、初代軟骨細胞の三次元培養系を用いて、当該因子が軟骨細胞の脱分化および線維化細胞への分化転換を誘導する分子機構の解明を目的として研究を行った。

3. 研究の結果

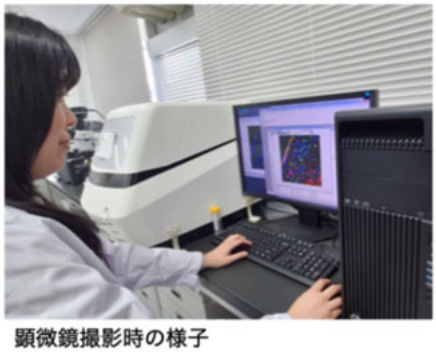
初代軟骨細胞は、三次元培養（ペレット培養）を行うことで軟骨特有の形態および機能が維持され、自己組織化が誘導されることが知られている。そこで本研究では、Cre依存的に標的遺伝子を発現誘導可能なマウスの膝関節由来初代軟骨細胞を用い、三次元培養によって自己組織化を誘導した後、アデノ随伴ウイルス（AAV）-Cre recombinaseを導入することで、当該因子の発現が軟骨細胞の脱分化および線維化細胞への分化転換を誘導するか検討した。その結果、当該アクチン動態制御因子を発現誘導した軟骨細胞では、Col2a1などの軟骨分化マーカーの発現が顕著に低下した一方で、種々の線維化関連遺伝子の発現上昇が認められた。また、細胞形態においても、部分的に軟骨細胞特有の球状形態から線維芽細胞様の伸展した形態への変化が観察され、軟骨細胞の脱分化および線維化細胞への表現型転換が強く示唆された。さらに、同サンプルを用いてRNA-seq解析を実施した結果、当該因子を発現誘導した軟骨細胞では、アクチン細胞骨格関連シグナル、細胞接着関連シグナル、ならびに線維化関連経路の有意な活性化が認められた。加えて、機能解析により、細胞骨格再構築や細胞外マトリックス形成に関与する遺伝子群の発現変動が確認され、当該因子を起点とする動態変化が、軟骨細胞の脱分化および線維化誘導に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

4. 研究者としてのこれからの展望

本研究では、軟骨細胞の脱分化過程において、アクチン細胞骨格の動態変化が線維化細胞への表現型転換に関与することを見出しました。今後は、軟骨細胞の脱分化や線維化に関与する分子ネットワークをさらに詳細に解析し、基礎研究から創薬応用へと発展させたいと考えています。また、シングルセル解析などの先端技術を活用し、病態解明と治療標的の探索を進めることで、軟骨再生医療の発展に貢献できる研究者を目指したいと思います。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は女性研究者奨励金に採択していただき、心より感謝申し上げます。ご支援のおかげで、新たな試薬の購入や学会参加が可能となり、研究を大きく進展させることができました。その結果、非常に有意義な実験成果を得ることができたと考えております。また、本奨励金によるご支援を受けたことで、新たな研究費獲得への挑戦にもつながりました。今後は、本研究課題で得られた成果をさらに発展させ、社会へ還元できるよう、より一層研究に励んでまいります。



顕微鏡撮影時の様子