

腱・靭帯の修復メカニズムの解明

1. 発表者：

- 立花 直寛（東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻 感覚・運動機能医学講座 整形外科
学 医学博士課程 [研究当時]）
田中 栄（東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻 感覚・運動機能医学講座 整形外科
学／東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科 教授）
齋藤 琢（東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻 感覚・運動機能医学講座 整形外科
学／東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科 准教授）

2. 発表のポイント：

- ◆腱・靭帯が障害を受けた際に出現する新規のプロジェニター細胞（注1）を発見しました。
このプロジェニター細胞はRSPO2（注2）という分泌タンパクを出し、腱・靭帯が損傷を受けた際に正しく修復が進むように周囲の細胞に作用することを解明しました。
- ◆このプロジェニター細胞はRSPO2の分泌を介し、腱・靭帯損傷後の修復過程において本来出来てはならない軟骨や骨の発生を防ぐこと、また、後縦靭帯骨化症（注3）の原因遺伝子の一つでもあるRSPO2の分泌の低下が靭帯骨化に繋がることも明らかにしました。
- ◆このプロジェニターは腱・靭帯の維持に広く関わっている可能性が高く、今回の成果は関節や脊椎の様々な変性疾患のメカニズム解明にも貢献すると期待されます。

3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科の立花直寛（医学博士課程 [研究当時]）、田中栄教授、齋藤琢准教授らのグループは、腱・靭帯が障害を受けた際に出現する新規のプロジェニター細胞を発見しました。腱や靭帯が損傷を受けると、その修復過程において本来出来てはならない軟骨や骨が生じてしまうことがあり、そうすると痛みが出て、関節の機能が著しく損なわれてしまいます。1細胞毎に発現遺伝子を解析するシングルセル解析の手法を駆使し、腱の修復過程に関わる全ての細胞を解析したところ、プロジェニター細胞集団の中にRSPO2を発現する一群がいることを発見しました。このRSPO2を分泌するプロジェニター細胞は、主にRSPO2の分泌を介して周囲の細胞の軟骨化や骨化を抑制しており、後縦靭帯骨化症の発症にも関わっていることが分かりました。このプロジェニター細胞は腱・靭帯の維持に広く関わっている可能性が高く、本研究の成果は様々な関節や脊椎の変性疾患のメカニズム解明にも繋がる成果と期待されます。本研究成果は日本時間2022年8月20日（米国東部夏時間：8月19日）に米国科学誌「Science Advances」のオンライン版に掲載されました。本研究は、主に科研費「基盤研究(S)（課題番号：19H05654）」の支援により実施されました。

4. 発表内容：

<研究の背景・先行研究における問題点>

腱・靭帯損傷後の修復過程では、軟骨や骨のような組織が生じてしまい、腱・靭帯の機能を大きく損なうことがあります。これまでの研究から、腱や靭帯にはプロジェニター細胞が存在し、腱・靭帯が損傷された後の修復を担っていることが知られていました。これらのプロジェニター細胞は腱・靭帯のみならず軟骨や骨に分化する能力も持っていることから、修復過程で誤って軟骨や骨が出来てしまうのは、これらのプロジェニター細胞が誤った方向に分化してし

もうからだろうと推測されてきましたが、実際の修復過程でこれらのプロジェニター細胞が軟骨や骨に分化しないように制御し、適切に腱・靭帯に分化するように誘導するメカニズムは全く分かっていませんでした。

また靭帯が骨化する疾患の代表として後縦靭帯骨化症が知られています。後縦靭帯骨化症についてはゲノムワイド関連解析によっていくつかの原因遺伝子が見つかっており、そのうちの 하나가 **RSPO2** でした。**RSPO2** は **WNT** シグナル（注 4）を活性化する分泌タンパクであり、**RSPO2** が **WNT** シグナルを介して靭帯が軟骨や骨に変わるのを抑制していると考えられてきましたが、どのような細胞が **RSPO2** を分泌するのか、**RSPO2** がどのような細胞に作用するのか、といったことは不明のままでした。

<研究内容>

マウスのアキレス腱を針で穿刺すると、その修復過程において本来出来てはならない軟骨や骨が腱の一部分に生じてしまいます。このモデルを用いて 1 細胞毎に発現遺伝子を解析するシングルセル解析を行い、修復過程に関わる細胞を全て解析したところ、プロジェニター細胞集団の中に **RSPO2** を発現する一群がいることを発見しました。シングルセル解析データを数理解析したところ、このプロジェニター細胞は最も未分化な特性を持つプロジェニター細胞であり、主に **RSPO2** の分泌を介して周囲の細胞に作用することが予想されました。そこで **RSPO2** を抗体によってブロックし、その機能を抑制したところ、腱修復過程での軟骨・骨が増え、逆に **RSPO2** を豊富に発現させると腱修復過程での軟骨・骨が減ることが分かりました（図）。さらに、培養細胞を用いた実験なども行ったところ、このプロジェニター細胞が **RSPO2** を介して周囲の細胞に作用し、軟骨や骨に分化するのを防ぎ、適切に腱・靭帯に分化するよう誘導していることが確認されました。

次に研究グループは **RSPO2** を分泌するプロジェニター細胞と後縦靭帯骨化症との関連を調べました。まずマウスの後縦靭帯を調べたところ、**RSPO2** は豊富に発現していました。続いて、後縦靭帯骨化症患者の手術の際に切除したサンプルを解析したところ、骨化靭帯の周辺に **RSPO2** が発現していました。また、後縦靭帯骨化症患者由来の細胞では、他の疾患の患者由来の細胞と比べて **RSPO2** の発現量が低いことが分かりました。これらのことから、この **RSPO2** を分泌するプロジェニター細胞が後縦靭帯骨化症の発症にも関わっていることが分かりました。

<社会的意義・今後の展望>

この **RSPO2** を分泌するプロジェニター細胞は、後縦靭帯骨化症以外にも様々な腱・靭帯の疾患に関わっている可能性があります。変形性関節症や変形性脊椎症は関節の軟骨や椎間板が変性する疾患ですが、その始まりは関節や脊椎を支持している靭帯の緩みであることが一部で推定されており、本研究で同定した **RSPO2** を分泌するプロジェニター細胞が関節や脊椎の疾患に広く関与している可能性も考えられます。現在研究グループは、様々な疾患における腱・靭帯のシングルセル解析を進めており、この成果を皮切りに、加齢に伴う関節や脊椎の疾患の発症メカニズムを広く解明し、予防法や治療法の開発に繋がりたいと考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Science Advances」（オンライン版：8月19日 ※米国東部夏時間）

論文タイトル：RSPO2 defines a distinct undifferentiated progenitor in the tendon/ligament and suppresses ectopic ossification

著者 : Naohiro Tachibana, Ryota Chijimatsu, Hiroyuki Okada, Takeshi Oichi, Yuki Taniguchi, Yuji Maenohara, Junya Miyahara, Hisatoshi Ishikura, Yasuhide Iwanaga, Yusuke Arino, Kosei Nagata, Hideki Nakamoto, So Kato, Toru Doi, Yoshitaka Matsubayashi, Yasushi Oshima, Asuka Terashima, Yasunori Omata, Fumiko Yano, Shingo Maeda, Shiro Ikegawa, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Sakae Tanaka, and Taku Saito*

6. 問い合わせ先 :

<研究内容に関するお問い合わせ先>

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科
准教授 齋藤 琢 (さいとう たく)

<広報担当者連絡先>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター
担当 : 渡部、小岩井
電話 : 03-5800-9188 (直通)
E-mail : pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説 :

注1 : プロジェニター細胞

靭帯には靭帯細胞、軟骨には軟骨細胞といった具合に、各組織は成熟分化した細胞によって構成されているが、これらの構成細胞の基となる未分化な細胞集団をプロジェニターと称する。組織が損傷された場合、プロジェニター細胞が遊走、増殖、分化することによって組織再生を行う。

注2 : RSPO2

RSPO2 とは R-spondin ファミリーに属するタンパクの1つであり、細胞外に分泌され、近隣の細胞の受容体に結合して WNT シグナルを活性化する。RSPO2 は四肢の形成に重要な役割を果たすことが知られており、後縦靭帯骨化症のゲノムワイド関連解析によってその発症に関わる可能性のある候補遺伝子としても報告されていた。

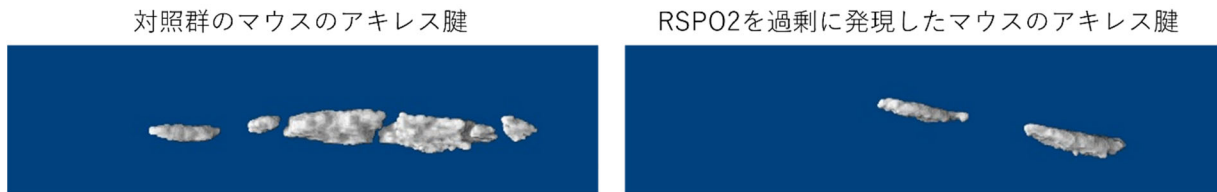
注3 : 後縦靭帯骨化症

後縦靭帯骨化症とは、後縦靭帯の骨化を主体とする疾患である。後縦靭帯は脊椎の靭帯の1つであり、この靭帯が骨化すると脊髄が圧迫され、手足の麻痺など多彩な症状を引き起こす。後縦靭帯骨化症は指定難病の1つであり、手術によって脊髄の圧迫を解除したり、骨化した靭帯を切除することによって症状の進行を緩和することはできるが、現在も予防法や治療薬は存在しない。

注4 : WNT シグナル

WNT シグナルとは、細胞間のシグナル伝達機構の1つであり、WNT リガンドが近隣の細胞の受容体に結合することによって情報が伝達される。WNT シグナルは生体の発生や各組織の分化、維持に関わる重要なシグナルであり、がんや骨粗鬆症など様々な疾患の発生にも関わるほか、障害を受けた組織が再生する際にも重要な役割を果たすことが知られている。

8. 添付資料：



図：RSPO2によるアキレス腱の異所性骨化の抑制

マウスの腱・靭帯のプロジェニター細胞にRSPO2を過剰に発現させた上で、アキレス腱を針で穿刺して障害を与え、その後の修復過程における異所性骨化の発生をマイクロCTで評価した。異所性骨化を生じやすい遺伝子背景のマウスを用いているが、それでもRSPO2を多く発現させることによって腱内の異所性骨化が強く抑制された。