

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：iPS細胞由来軟骨細胞を用いた軟骨疾患再生治療法の開発拠点
2. 研究開発代表者：妻木 範行（京都大学iPS細胞研究所）
3. 研究開発の成果

本研究は、十分な量の高品質な硝子軟骨細胞を供給する方法を確立し、軟骨細胞移植を行う医療機関への移植用軟骨細胞の供給体制を整備することを通して、わが国における軟骨再生医療の実現化・隆盛に貢献することを目的とする。

我々はこれまでに研究用ヒトiPS細胞を用いて、良質な硝子軟骨を分化誘導する技術を探索し、開発に成功した。

平成27年度はヒトiPS細胞から分化誘導した軟骨組織を、免疫不全マウスの皮下に移植し、硝子軟骨組織が形成されていることを確認した。また、免疫不全ラットの軟骨欠損モデルに移植し、移植片がラットの母床軟骨に癒合することを示した。大型の動物モデルとしてミニブタを用い、膝関節の荷重部位に軟骨欠損を作出し、ヒトiPS細胞由来軟骨を移植した。結果、ヒトiPS細胞から作製した軟骨組織が、ブタ関節に作製した軟骨欠損部に生着し、荷重を支えて機能していることが確認された。一方、免疫不全マウスや、免疫不全ラットにヒトiPS細胞由来軟骨を移植した場合でも、造腫瘍性や異所性組織形成を起こさないことが確認された（Stem Cell Reports, 2015）。以上のことから、ヒトiPS細胞由来軟骨は移植治療の材料として有効であることが示唆された。

以上の検討と並行して、HLAホモの臨床研究用ヒトiPS細胞の提供を受け、ヒトiPS細胞由来軟骨製造のプロトコール（SOP）を策定した。分化誘導後から、移植実施までの工程、すなわち、洗浄工程、活性を維持する保存方法、運搬方法についても検討を行い、条件を決定した。さらに臨床研究用ヒトiPS細胞由来軟骨の品質管理基準、特性解析、非臨床安全性、非臨床有効性の各検証項目を設定した。作成したSOPに従い、細胞加工施設内での臨床研究用ヒトiPS細胞からの軟骨製造を開始した。臨床研究用ヒトiPS細胞由来軟骨組織を免疫不全マウスの皮下や、免疫不全ラットの関節軟骨欠損モデル、ミニブタの膝関節軟骨欠損モデルへ移植し、非臨床試験（安全性試験、有効性試験）実施に向けた基礎的検討を行い、非臨床試験を開始する準備が整った。

一方で、ヒトiPS細胞から軟骨細胞への分化誘導の効率に影響を与える因子を探索し、その機能を解析した。軟骨細胞分化に影響を与える因子としてSIK3に着目し、SIK3を阻害する効果のある化合物を同定した。この化合物の添加によって、軟骨細胞の肥大化や軟骨組織の石灰化が抑制することを見出した（Nature Communications, 2016）。この結果によって、ヒトiPS細胞が軟骨へと分化する過程でSIK3が重要な役割を果たしていることが明らかとなり、その機序の理解が進んだ。