

変形性関節症における 脂肪組織由来細胞の作用機序

Mechanism of Action of Adipose-Derived Cells in Osteoarthritis

蒲地 正宗

Masamune Kamachi

神戸大学大学院整形外科

Department of Orthopaedic Surgery, Kobe University Graduate School of Medicine

松下 雄彦

Takehiko Matsushita

神戸大学大学院整形外科 医学研究員／明和病院整形外科 部長

Department of Orthopaedic Surgery, Kobe University Graduate School of Medicine (Medical researcher) /

Department of Orthopaedic Surgery, Meiwa hospital (Director)

松本 知之

Tomoyuki Matsumoto

神戸大学大学院整形外科 准教授

Department of Orthopaedic Surgery, Kobe University Graduate School of Medicine (Associate Professor)

傍島 聡

Satoshi Sobajima

そばじまクリニック 院長

Incorporated Medical Institution Saiseikikai Sobajima Clinic (Director)

黒田 良祐

Ryosuke Kuroda

神戸大学大学院整形外科 教授

Department of Orthopaedic Surgery, Kobe University Graduate School of Medicine (Professor)

KEYWORD ▶

間葉系幹細胞

脂肪由来幹細胞

関節軟骨

受理日:2025年7月7日

はじめに

01

脂肪由来幹細胞(adipose derived stem cell:ADSC)は、2001年にZukら¹⁾によって、ヒト脂肪組織から単離された多分化能を有する幹細胞として初めて報告された。それ以前は、1999年にPittengerら²⁾が報告した骨髄由来の間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell:MSC)が主流であったが、ADSCはその代替候補として注目されるようになった。骨髄の採取は侵襲性が高く、得られる幹細胞数が限られているという課題がある。一方で、脂肪組織は局所麻酔下で比較的容易に大量に採取でき、かつ幹細胞の含有量が多いことから、幹細胞の供給源として広く利用されるようになった。わが国においても、変形性膝関節症(OA)に対し、自由診療の範囲ではあるが臨床応用が進んでいる。本稿では、脂肪組織由来細胞のOAに対する関節内投与の作用機序を中心に文献的エビデンスも踏まえて概説する。

間葉系幹細胞

02

間葉系幹細胞(MSC)は、国際細胞治療学会(International Society for Cellular Therapy; ISCT)により、以下の3点で定義されている。① 標準的な培養条件下においてプラスチック表面への接着性を示すこと、② 表面マーカーとしてCD73、CD90、CD105が陽性であり、かつCD11bまたはCD14陰性、CD79aまたはCD19陰性、HLA-DRが陰性であること、③ 骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞への分化能を有すること³⁾。このような多分化能に加え、免疫調節作用や抗炎症効果、血管新生促進能などの特性を活かし、さまざまな疾患への応用が期待されている(図1)。

脂肪組織由来細胞

03

脂肪組織由来細胞は、培養の有無によりいくつかに分類される。非培養の間質血管細胞群(stromal vascular fraction: SVF)、SVFの一種である脂肪組織由来再生細胞(adipose

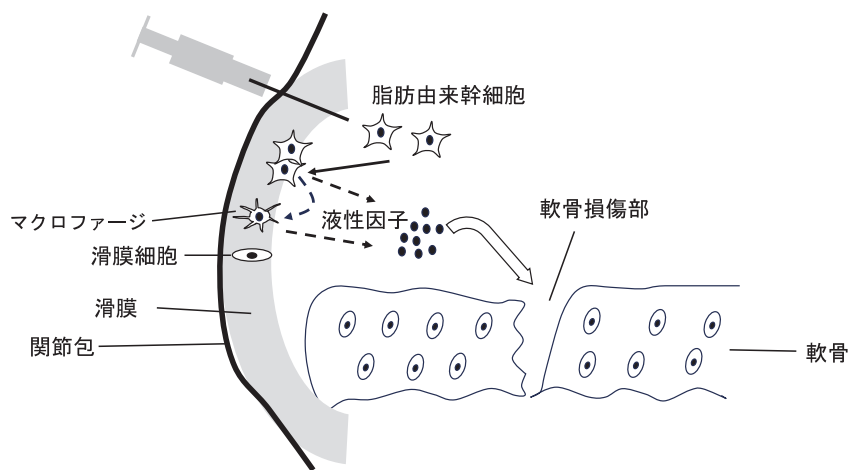


図1 関節内における脂肪由来幹細胞の作用機序

derived regenerative cells:ADRC)、そしてSVFを培養して得られるADSCである⁴⁾。SVFは、酵素処理によって脂肪組織から作製され、血管内皮前駆細胞、周皮細胞、脂肪前駆細胞、平滑筋細胞、末梢血由来細胞など複数の細胞が混在するため、多様な効果が期待できるが、MSCの割合は少ない⁵⁾。一方、ADSCはSVFを培養することで、より純度の高いMSCが得られる⁶⁾。さらに近年では、酵素処理や遠心分離を用いずに得られる微小細断脂肪組織片(micro-fragmented adipose tissue:MFAT)も臨床で使用されている⁷⁾。

脂肪組織由来細胞の関節内投与後の挙動 04

Liら⁸⁾は、膝関節内投与されたヒトADSCの動態を明らかにするため、DiD(ジアルリカルコシアニン類似物質)を用いた新たな細胞トラッキング技術を開発した。内側半月板切除を行ったラットの膝関節に、DiD標識済みのヒトADSCを注入したところ、半月板や関節軟骨において移植細胞が検出された。さらにヒトKi67陽性細胞の存在から、10週にわたり局所で細胞増殖が継続している可能性を示唆した。また、Desandoら⁹⁾は、ウサギの膝前十字靭帯切除によってOAモデルを作成し、SVF、ADSC、MFATをそれぞれ蛍光標識して関節内投与し、滑膜、半月板、軟骨への細胞分布を観察した。投与7日後には、ADSCとSVF由来細胞は滑膜に、MFAT由来細胞は軟骨に分布していた。30日後には、ADSCは主に半月板に、SVFは半月板および軟骨に、MFATは滑膜に確認された。Kamadaら¹⁰⁾の研究では、ヌードマウスOAモデルに対し、ヒトADRCを膝関節内投与し、1週および4週後にヒト核抗原に対する免疫染色を実施した結果、軟骨組織内には細胞が確認されず、滑膜に局限して存在していたと報告した。

以上を踏まえると、細胞種や処理方法の差異により、脂肪組織由来細胞の移動経路や分布に差が出る可能性を示唆している。また、評価時期、検出方法によっても結果が異なる可能性もある。

脂肪組織由来細胞の軟骨に対する効果および機序

05

脂肪組織由来細胞の治療効果は、関節内の損傷組織に対する直接的な分化・修復作用に加え、分泌因子を介したパラクライン効果がOAに対する効果として期待されている。

5-1. 軟骨分化

ADSCは多分化能を有するが、in vivoでレシピエント部位において実際に軟骨へ分化し、修復に寄与したという報告は少ない¹¹⁾。Windtら¹²⁾は、自家軟骨細胞とともに移植した他家骨髄由来MSCが、MRIと関節鏡所見により軟骨再生を促進したことを報告したが、再生部位からはドナーDNAが検出されず、レシピエント由来であった。このことから移植した他家MSCは恒久的に宿主組織に定着しないことを報告した。Zwolanekら¹³⁾の報告では、ヒト胎盤アルカリホスファターゼで標識されたMSCをマウスおよびラットOAモデルに移植したところ、欠損部に細胞が集積し軟骨再生が認められたが、修復に関与したのはレシピエント由来細胞であったと報告した。同研究では、MSCが欠損部に付着し、生理活性因子を分泌することで、軟骨細胞の肥大化や骨形成を抑制した可能性を述べている。

これらの報告から、現時点では脂肪由来幹細胞が直接軟骨に分化して再生に寄与する可能性は限定的と考えられる。

5-2. パラクライン効果

脂肪由来細胞はサイトカインや成長因子、エクソソームなど様々な液性因子を放出して周囲の細胞や組織に作用し抗炎症作用や組織修復作用を示すことが報告されている。動物同種の実験では、Takagiら¹⁴⁾はADSC細胞シートを作製し、ウサギOAモデルに自家ADSCシートを膝関節内に注入した。ADSC細胞シート群においてMMP-1、MMP-13、ADAMTS-4の発現が抑制された。ADSC細胞シートが、軟骨保護作用を持つ液性因子を分泌することで、関節軟骨の変性の進行を抑制する可能性を報告した。また、Kurodaら¹⁵⁾は、ADSCは関節内投与後に滑膜に移動し、ACL切除ウサギ変形性関節症モデルにおける軟骨変性の進行を抑制したと報告した。また、ADSCと非接触型共培養した軟骨細胞の生存率は、単独で培養した軟骨細胞よりも高く、また、MMP-13の産生が低下することを報告し、液性因子の分泌を介した効果を示唆した。

OAの進行が有意に抑制されることを報告した。変形性関節症のメカニズムとして、炎症性サイトカインやMMPの発現増加を伴うM1/M2マクロファージ比の増加が挙げられる¹⁶⁾。Kamadaらは、ヌードマウスOAモデルにヒトADSCを移植する実験や非接触型共培養実験において、ADSCにはマクロファージをM2型に分化させる作用があることや、液性因子がマクロファージに与える影響を報告した¹⁰⁾。Fujitaら¹⁷⁾は、SVFを構成するADSCおよびM2マクロファージを含む細胞群がTGF- β を産生し、Smad2/3シグナル伝達経路のリン酸化を介して、軟骨細胞の再生促進と変性抑制に作用することを報告した。また、Onoiら¹⁸⁾は、軟骨細胞の試験管内培養においてSVF、M2マクロファージ、ADSCのいずれかを共に培養したところ、SVF共培養群、M2マクロファージ共培養群の順に軟骨ペレットサイズが大ききことを示した。加えて、SVF共培養群における培養液中のTGF- β およびIL-10の濃度が高かったことから、SVFに含まれるM2マクロファージからの液性因子が軟骨ペレットサイズの増大に貢献する可能性を報告した。

近年、軟骨再生に対するADSCのエクソソームを中心とした細胞外小胞の効果についての研究も数多く報告されている。エクソソームは、細胞から分泌される直径40~160nmの細胞外小胞の一種である。細胞外に放出されると標的細胞に輸送され、細胞間コミュニケーションに関与する¹⁹⁾。また、血管新生の促進や免疫反応や炎症反応の調節、細胞アポトーシスの抑制に関与し、組織の修復と再生を促進する効果が報告されている^{20, 21)}。Zhaoら²²⁾はADSCのエクソソームが過酸化水素によるアポトーシスから関節軟骨細胞を保護することを報告した。その機序として、miR-145とmiR-221を増加させ、炎症性サイトカインの発現を低下させることで軟骨形成を促進することを発見した。Liら²³⁾は、ADSC由来エクソソーム中のmiR-376c-3pがin vivoおよびin vitroの両方においてWNT- β カテニン経路を抑制することで、軟骨細胞分解と滑膜線維化を改善したことを報告した。また、BMPs (Bone Morphogenetic Proteins)は軟骨細胞にRunx2の発現を増加させ、軟骨細胞の肥大化を引き起こすこと

で細胞外マトリックスを分解し、軟骨破壊を進行することが知られている。Kangら²⁴⁾は、ADSCが分泌するエクソソームにはmiR-57-3pが含まれ、CPRIM1タンパク質の発現を増加させ、BMPsの働きを抑制することを報告した。これにより、炎症下で過剰に活性化されるBMPsを抑制し、変形性関節症の進行を防ぐ可能性を示唆した。さらにLiらは²⁵⁾、軟骨分化におけるエクソソームの効果は由来組織で異なり、脂肪幹細胞由来エクソソームが骨髄・滑膜幹細胞由来エクソソームより優れている可能性を報告した。脂肪幹細胞由来エクソソームで処理したMSCsが他の幹細胞由来エクソソームで処理したMSCsよりコラーゲンII型、SOX9の発現上昇を認めた。Tsubakiら²⁶⁾は、ドナー年齢の高齢化と培養継代の増加により細胞外小胞中のmiRNAの多様性が大きく変化する可能性を報告した。さらに細胞外小胞のmiRNA群によって潰瘍性大腸炎、変形性関節症などの疾患で発現上昇している遺伝子群にどの程度作用するかに大きな違いがあることを明らかにした。このことから、各疾患に最適化された細胞外小胞を準備するためには、ドナー年齢や培養継代数を考慮する必要があることを示唆した。

まとめ

06

脂肪組織由来細胞は、採取の容易さや幹細胞の豊富さといった利点から、OAに対する治療法の一つとして期待され、自由診療下での臨床応用が進んでいる。本稿で紹介したように、脂肪由来細胞は主にパラクライン効果を通じて多彩な作用を発揮し、関節症状の軽減や進行抑制、さらには軟骨保護に寄与することが示唆されている。ただし、その詳細な作用メカニズムについては未解明な部分が多く残されており、今後のさらなる研究によってその全容が明らかになることが望まれる。脂肪組織由来細胞が関節機能を温存するための新たな細胞治療として確立される日が期待される。

参考文献

1. P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. J. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz, and M. H. Hedrick. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001, 7, 211-228.
2. M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, and D. R. Marshak. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999, 284, 143-147.
3. M. Dominici, K. L. Blanc, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F. Marini, D. Krause, R. J. Deans, A. Keating, D. J. Prockop, and E. M. Horwitz. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006, 8, 315-317.
4. K. Lin, Y. Matsubara, Y. Masuda, K. Togashi, T. Ohno, T. Tamura, Y. Toyoshima, K. Sugimachi, M. Toyoda, H. Marc, and A. Douglas. Characterization of adipose tissue-derived cells isolated with the CelutionTM system. *Cytotherapy.* 2008, 10, 417-426.
5. L. Zimmerlin, V. S. Donnenberg, J. P. Rubin, and A. D.

- Donnenberg. Mesenchymal markers on human adipose stem/progenitor cells. *Cytometry Part A*. 2013, 83A, 134-140.
6. P. Thitilertdech, V. Lohsiriwat, P. Pongpaiboj, V. Tantithavorn, and N. Onlamoon. Extensive Characterization of Mesenchymal Stem Cell Marker Expression on Freshly Isolated and In Vitro Expanded Human Adipose-Derived Stem Cells from Breast Cancer Patients. *Stem Cells Int*. 2020, 8237197.
7. C. Tremolada, V. Colombo, and C Ventura. Adipose Tissue and Mesenchymal Stem Cells: State of the Art and Lipogems. *○ R Technology Development. Curr Stem Cell Rep*. 2016, 2, 304-312.
8. M. Li, X. Luo, X. Lv, V. Liu, G. Zhao, X. Zhang, W. Cao, R. Wang, and W. Wang. In Vivo Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Tracking after Intra-Articular Delivery in a Rat Osteoarthritis Model. *Stem Cell Res. Ther*. 2016, 7, 160.
9. G. Desando, I Bartolotti, L. Martini, G. Giavaresi, N. N. Aldini, M. Fini, A. Roffi, F. Perdida, G. Filardo, E. Kon, and B. Grigolo. Regenerative Features of Adipose Tissue for Osteoarthritis Treatment in a Rabbit Model: Enzymatic Digestion Versus Mechanical Disruption. *Int. J. Mol. Sci*. 2019, 29, 2636.
10. K. Kamada, T. Matsushita, T. Yamashita, T. Matsumoto, H. Iwaguro, S. Sobajima, and R. Kuroda. Attenuation of Knee Osteoarthritis Progression in Mice through Polarization of M2 Macrophages by Intra-Articular Transplantation of Non-Cultured Human Adipose-Derived Regenerative Cells. *J. Clin. Med*. 2021, 10, 4309.
11. J. Zhou, N. Wu, J. Zeng, Z. Liang, Z. Qi, H. Jiang, H. Chen, and X. Liu. Chondrogenic differentiation of adipose-derived stromal cells induced by decellularized cartilage matrix/silk fibroin secondary crosslinking hydrogel scaffolds with a three-dimensional microstructure. *Polymers (Basel)*. 2023, 15, 1868.
12. T. S. de Windt, L. A. Vonk, I. C. M. Slaper-Cortenbach, R. Nizak, M. H. P. van Rijen, and D. B. F. Saris. Allogeneic MSCs and recycled autologous chondrons mixed in a one-stage cartilage cell transplantation: a first-in-man trial in 35 patients. *Stem Cells*. 2017, 35, 1984-1993.
13. D. Zvolanek, M. Satué, V. Proell, J. R. Godoy, K. I. Odörfer, M. Flicker, S. C. Hoffmann, T. Rüllicke, and R. G. Erben. Tracking mesenchymal stem cell contributions to regeneration in an immunocompetent cartilage regeneration model. *JCI Insight*. 2017, 2, e87322.
14. T. Takagi, T. Kabata, K. Hayashi, X. Fang, Y. Kajino, D. Inoue, T. Ohmori, T. Ueno, J. Yoshitani, K. Ueoka, Y. Yamamuro, H. Tsuchiya. Periodic injections of adipose-derived stem cell sheets attenuate osteoarthritis progression in an experimental rabbit model. *BMC Musculoskelet Disord*. 2020, 21, 691.
15. K. Kuroda, T. Kabata, K. Hayashi, T. Maeda, Y. Kajino, S. Iwai, K. Fujita, K. Hasegawa, D. Inoue, N. Sugimoto, and H. Tsuchiya. The paracrine effect of adipose-derived stem cells inhibits osteoarthritis progression. *BMC Musculoskelet Disord*. 2015, 16, 236.
16. H. Zhang, D. Cai, and X. Bai. Macrophages Regulate the Progression of Osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil*. 2020, 28, 555-561.
17. M. Fujita, T. Matsumoto, S. Hayashi, S. Hashimoto, N. Nakano, T. Maeda, Y. Kuroda, Y. Takashima, K. Kikuchi, K. Anjiki, K. Ikuta, Y. Onoi, S. Tachibana, T. Matsushita, H. Iwaguro, S. Sobajima, T. Hiranaka, and R. Kuroda. Paracrine effect of the stromal vascular fraction containing M2 macrophages on human chondrocytes through the Smad2/3 signaling pathway. *J. Cell. Physiol*. 2022, 237, 3627-3639.
18. Y. Onoi, T. Matsumoto, K. Anjiki, S. Hayashi, N. Nakano, Y. Kuroda, M. Tsubosaka, T. Kamenaga, K. Ikuta, S. Tachibana, Y. Suda, K. Wada, T. Maeda, A. Saitoh, T. Hiranaka, S. Sobajima, H. Iwaguro, T. Matsushita, R. Kuroda. Human uncultured adipose-derived stromal vascular fraction shows therapeutic potential against osteoarthritis in immunodeficient rats via direct effects of transplanted M2 macrophages. *Stem Cell Res. Ther*. 2024, 15, 325.
19. R. Kalluri, and V. S. LeBleu. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. 2020, 367, 6478.
20. K. Shen, Y. Jia, X. Wang, J. Zhang, K. Liu, J. Wang, W. Cai, J. Li, S. Li, M. Zhao, Y. Wang, and D. Hu. Exosomes from adipose-derived stem cells alleviate the inflammation and oxidative stress via regulating Nrf2/HO-1 axis in macrophages. *Free Radic. Biol. Med*. 2021, 165, 54-66.
21. F. Xu, Q. Xiang, J. Huang, Q. Chen, N. Yu, X. Long, and Z. Zhou. Exosomal miR-423-5p mediates the proangiogenic activity of human adipose-derived stem cells by targeting Sufu. *Stem Cell Res. Ther*. 2019, 10, 106.
22. C. Zhao, Jin-Yang Chen, Wen-Ming Peng, B. Yuan, Q. Bi, and You-Jia Xu. Exosomes from adipose-derived stem cells promote chondrogenesis and suppress inflammation by upregulating miR-145 and miR-221. *Mol. Med. Rep*. 2020, 21, 1881-1889.
23. F. Li, Z. Xu, Z. Xie, X. Sun, C. Li, Y. Chen, J. Xu, and G. Pi. Adipose mesenchymal stem cells - derived exosomes alleviate osteoarthritis by transporting microRNA - 376c - 3p and targeting the WNT - beta - catenin signaling axis. *Apoptosis*. 2023, 28, 362-378.
24. J. Kang, L. Zhang, L. Zhang, N. Nan, Y. Liu, and H. Hao. Exosomal miR-574-3p from adipose-derived mesenchymal stem modulates CRIM1/BMPs signaling to restrain chondrocytes hypertrophy and inflammatory response in knee osteoarthritis. *Int. Immunopharmacol*. 2025, 159, 114916.
25. Q. Li, H. Yu, M. Sun, P. Yang, X. Hu, Y. Ao, and J. Cheng. The tissue origin effect of extracellular vesicles on cartilage and bone regeneration. *Acta Biomater*. 2021, 125, 253-266.
26. T. Tsubaki, R. Chijimatsu, T. Takeda, M. Abe, T. Ochiya, S. Tsuji, K. Inoue, T. Matsuzaki, Y. Iwanaga, Y. Omata, S. Tanaka, and T. Saito. Aging and cell expansion enhance microRNA diversity in small extracellular vesicles produced from human adipose-derived stem cells. *Cytotechnology*. 2025, 77, 15.