

Title	Bone marrow-derived osteoblast progenitor cells in circulating blood contribute to ectopic bone formation in mice
Author(s)	大鶴, 聰
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47455
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	おお 大 つる 鶴 さとる 聰
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20980 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Bone marrow-derived osteoblast progenitor cells in circulating blood contribute to ectopic bone formation in mice. (異所性骨形成における末梢血骨髄由来骨前駆細胞の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀樹 (副査) 教授 仲野 徹 教授 大藪 恵一

論 文 内 容 の 要 旨

(目的)

Bone morphogenetic proteins-2 (BMP-2) は、in vitro ならびに in vivo において強力な骨形成誘導能を有していることが知られている。実際骨折治癒過程においても、その初期段階において BMP-2 が骨新生領域に発現していることが明らかとなっており、生体内での骨形成に非常に重要な役割を担っていると考えられている。BMP-2 による骨形成モデルとしては、recombinant human BMP-2 含有コラーゲンのマウス背部筋膜下移植による異所性骨化誘導モデルが知られている。このモデルは骨前駆細胞の貯留源である骨髄や骨組織から離れた異所性部位に骨前駆細胞が動員され骨新生が誘導されるものであるが、その動員される骨前駆細胞の起源に関してはいまだ明らかにされていない。これまで周囲の筋肉に存在する幹細胞が関与していると考えられていたが、その詳細は不明のままであった。近年、末梢血中に骨前駆細胞が発見され注目を集めているが、生体内での実際の骨形成への関与やその起源に関しては未だ明らかにされていない。そこで、我々は BMP-2 による異所性骨化への末梢血骨前駆細胞の関与、ならびにその起源を明らかとすることを目的に研究を行った。

(方法ならびに成績)

BMP-2 による異所性骨化への骨髄細胞の寄与について検討するため骨髄移植マウスを作製した。まず C57BL/6 マウスに致死量である 10 Gy の放射線を照射した後、Green fluorescent protein (GFP) transgenic マウスの骨髄細胞を尾静脈より移植した。続いて骨髄細胞を移植後 6 週以降に、3 μ g の BMP-2 を含有させたコラーゲン担体を背部筋膜下に移植した。BMP-2 含有コラーゲン担体の移植後 3 週で、背部筋膜下に異所性骨形成を認め、異所性骨に GFP の集積を認めた。さらに、形成された異所性骨を免疫組織学的に検討したところ、骨芽細胞マーカーである osteocalcin を発現する GFP 陽性細胞を新生骨表面に多数認めた。したがって、骨髄から離れた所に骨髄由来骨前駆細胞が動員され異所性骨形成に関与していることが明らかとなり、その供給は血流を介している可能性が示唆された。そこで、BMP-2 含有コラーゲン担体を移植したマウスの末梢血単核球分画を in vitro で培養し十分増殖させた後、骨分化誘導培地で培養した結果、骨芽細胞マーカーである alkaline phosphatase や osteocalcin の発現誘導が認められ、BMP-2

含有コラーゲン担体移植により末梢血への骨髄由来骨前駆細胞の動員が明らかとなった。この末梢血に動員された骨髄由来骨前駆細胞が生体内での骨形成に寄与しているか検討するために、BMP-2 含有コラーゲン担体を移植した GFP transgenic マウスの末梢血単核球分画を、BMP-2 含有コラーゲン担体を移植した nude マウスに経静脈的に移植した。移植後3週で形成された異所性骨を免疫組織学的に検討したところ、osteocalcin を発現する GFP 陽性細胞が骨表面に多数認められた。したがって、末梢血へ動員された骨髄由来骨前駆細胞は、血流を介して異所性骨形成に関与していることが明らかとなった。

(総括)

本研究により、BMP-2 含有コラーゲン担体による異所性骨形成に動員される骨前駆細胞は、骨髄を起源とし、血流を介して骨形成部位に動員されることが明らかとなった。また、これまで報告されてきた末梢血骨前駆細胞が骨髄由来であり生体内での骨形成に寄与することが初めて明らかとなった。さらに、骨折治癒過程において、健常骨由来骨髄から骨前駆細胞が動員され、血流を介して骨折部に動員されている可能性が示唆された。以上の研究結果は、骨折治癒や異所性骨形成など、骨再生過程における骨髄由来骨前駆細胞の役割を初めて明確に示すものであると考える。

論文審査の結果の要旨

Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) は非常に強力な骨形成誘導能を有しており、BMP-2 含有コラーゲンペレットの筋肉内移植により生体内で異所性骨形成が誘導されることはすでに知られていた。しかし、この異所性骨形成に動員される骨前駆細胞の起源や動員経路に関しては明らかにされていなかった。これまで移植部周囲の筋肉内に存在する幹細胞が異所性骨形成に関与していると考えられていたが、その詳細は不明であった。今回、申請者の研究により、この BMP-2 による異所性骨形成に骨髄由来の骨前駆細胞が血流を介して骨形成部に動員されることが初めて明らかとなった。今回の研究結果と骨折部での BMP-2 の発現というこれまでの報告を合わせ、骨折治癒過程においても健常骨の骨髄から骨前駆細胞が動員され血流を介して骨折部に動員されている可能性が示唆された。これらの研究結果は、生体内での骨形成メカニズムにおける骨髄由来末梢血骨前駆細胞の関与を初めて明確にすると同時に、末梢血骨前駆細胞を用いた新規細胞治療開発に発展することが期待され、学位に値するものとする。