

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 骨系細胞を基軸とする生体硬組織の微細構造形成メカニズムに関する研究                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Author(s)    | 小笹, 良輔                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Citation     | 大阪大学, 2019, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/72391">https://hdl.handle.net/11094/72391</a>                                                                                                                                                                                                     |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Note         | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏名 ( 小笹 良輔 )

論文題名 骨系細胞を基軸とする生体硬組織の微細構造形成メカニズムに関する研究

## 論文内容の要旨

本論文では、骨が構造材料として機能発現するために重要な、骨コラーゲン/アパタイト結晶ナノ複合体の異方性構造(骨基質配向性)を形成する機構について、骨系細胞の役割・機能に着目して解明した。本論文は、以下に示す全8章より構成されている。

第1章は序論であり、骨力学的機能における骨基質配向性の重要性について説明した。骨系細胞による骨形成と骨吸収挙動について記述するとともに、骨系細胞が骨基質の異方性構造を制御する可能性について説明し、本論文の研究指針について述べた。

第2章では、骨代謝を直接的に行う破骨細胞と骨芽細胞間における代謝現象が、骨微細構造を形成する機序について、大理石骨症罹患マウス由来細胞を用いて*in vitro*により検討した。骨芽細胞はコラーゲン足場材料が持つ異方的分子配列を認識するものの、骨芽細胞自律的な機能だけでは、細胞形態・産生骨基質は一定の配向性しか示さない。他方、破骨細胞が存在する生体骨模擬環境下において、骨芽細胞は顕著に配向性を増加し、破骨細胞を起点する細胞間カップリングが細胞形態異方性を制御することを見出した。従来的には、骨吸収のみを行うとされてきた破骨細胞が、積極的に骨微細構造の形成に関与することを本研究により初めて発見した。

第3章では、第2章にて存在が示唆された破骨細胞由来のカップリング因子を特定することに成功した。約3万種類の遺伝子を対象とした網羅的遺伝子発現解析と定量的遺伝子発現解析により、破骨細胞由来の可溶性タンパク質を同定し、当該タンパク質によるリガンド/受容体経路が細胞・基質の配向化を制御することを示した。

第4章では、第3章にて見出した破骨細胞由来因子の遺伝子欠損マウスでは、骨基質配向性が低下することから、当該因子によるリガンド/受容体経路が、*in vivo*における骨基質配向性を制御することを明らかにした。つまり、生体骨では、骨芽細胞が破骨細胞による水溶性タンパク質を享受し、配向化骨が形成されることを初めて解明した。

第5章では、第2章から第4章にて見出した知見の有効性について、ヒト骨芽細胞を用いて検証した。ヒト骨芽細胞は異方性基板材料の分子配列を認識して配列化し、同一方向へと配向化骨基質を産生した。したがって、ヒト骨芽細胞はマウス骨芽細胞と同様の機序で骨微細構造を形成することを明らかにし、骨基質配向化制御のための創薬ターゲットとして、第2章から第4章にて見出した経路が有用であることを示した。

第6章では、応力感受細胞であるオステオサイトに基づく骨微細構造形成機構について、異なる要因による複数の骨粗鬆症罹患モデルラットを用いて検討した。骨粗鬆症骨は発症の要因にかかわらず共通して骨量を減少する一方で、オステオサイトの応力感受機能に依存して、配向性は異常上昇/異常減少することを発見した。つまり、配向性形成には、オステオサイトによる応力感受機能が関与することを示唆した。

第7章では、第6章により得られた知見に基づき、細胞骨格形成関連タンパク質の過剰発現マウスの大腿骨材料に着目することで、オステオサイトの密度増加と対応して骨基質配向性が上昇することを明らかにし、骨配向性制御におけるオステオサイトの関与について示した。

第8章では、本研究により得られた知見を総括した。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

|                 |     |     |       |
|-----------------|-----|-----|-------|
| 氏 名 ( 小 笹 良 輔 ) |     |     |       |
| 論文審査担当者         | (職) | 氏 名 |       |
|                 | 主 査 | 教授  | 中野 貴由 |
|                 | 副 査 | 教授  | 藤木 慎司 |
|                 | 副 査 | 教授  | 荒木 秀樹 |
|                 | 副 査 | 准教授 | 石木 卓也 |

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、骨が異方的な力学的環境下にて機能発現するために不可欠な、アパタイト/コラーゲンの優先配向化構造の形成・制御機構について、骨系細胞の役割に焦点を当てて明らかにしている。とりわけ、基軸となる材料工学的解析と生物工学的手法を相補的に駆使することで、配向化を制御する骨系細胞間シグナル分子の同定に成功している。

第 1 章は序論であり、骨力学機能に対する骨基質配向化構造の重要性について、材料工学的知見に基づいて述べている。さらに、骨系細胞の役割と、骨基質と骨系細胞との関係性について言及し、骨基質配向化が骨系細胞によって制御される可能性について説明している。

第 2 章では、骨吸収を担う破骨細胞の機能不全と骨配向性低下を同時に呈する大理石骨症に着目し、大理石骨症罹患マウスより抽出したプライマリー細胞による破骨細胞-骨芽細胞共培養系を構築することで、骨芽細胞が産生する骨基質の配向化には健全な機能を有する破骨細胞の存在が必須であることを証明している。従来、骨を吸収する役割を持つと理解されてきた破骨細胞が、骨芽細胞をも能動的に制御し、配向化した骨基質産生を促す機能を有することを初めて見出している。

第 3 章では、前章で見出した破骨細胞による骨芽細胞と骨基質配向化を制御する生物学的因子として、破骨細胞由来の水溶性タンパク質を同定している。加えて、大理石骨症では、当該タンパク質の発現が低下していることを実証している。

第 4 章では、前章で同定した破骨細胞由来タンパク質が発現しない遺伝子欠損マウスを設計・作製することで、当該タンパク質が *in vivo* 環境下において骨基質配向化に不可欠な因子であることを証明している。

第 5 章では、ヒト由来細胞とマウス由来細胞における骨形成挙動の類似性を明らかにすることで、第 2 章から第 4 章にて得られた骨配向化制御機構に関する知見がヒトにも適用可能であることを実証している。

第 6 章では、骨粗鬆症における配向性変化が、応力感受を担うオステオサイトの機能によって支配されることを見出している。骨粗鬆症発現の要因によらず骨密度は低下する一方で、その要因に依存して配向性は上昇/低下と逆の変化を示し、これがオステオサイトの正常/異常状態と対応することを示している。

第 7 章では、細胞骨格形成関連タンパク質の過剰発現マウスを用いて、オステオサイト密度の上昇と同調して骨基質配向性が異常上昇することを明らかにし、骨配向化制御におけるオステオサイトの関与を示している。

第 8 章では、本論文により得られた骨系細胞による骨配向化構造の形成機構と制御因子に関する成果を総括するとともに、骨基質配向性を人為的に制御することの意義とその指針について述べている。

以上のように、本論文では、材料工学的解析を基軸とし、構造・機能材料としての骨の基質配向化・力学機能化を支配する骨系細胞由来の因子を同定するとともに、骨材質の配向性を制御するという骨系細胞の従来の理解を超えた新たな機能を見出し、学術的に有益な多くの知見を得ており、材料工学の発展に対して寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。