

## 【助成 38 -30】

### 骨組織の材料物性に及ぼす骨髄機能の解明と、骨粗鬆症の治療に向けた応用

研究者 東北大学大学院医学系研究科 分子代謝生理学分野

日本学術振興会 特別研究員 PD

荒井 誠

#### 〔研究の概要〕

本研究では長期的な方向性として、超高齢化社会を迎え今もなお増え続けている骨粗鬆症や骨折を抑え、健康寿命を延伸することを見据えている。そしてそのために、骨組織の強度を構成する因子として骨組織内部の骨髄、特に骨細胞の源である間葉系幹細胞に注目して、その役割を調べることを目的とした。骨折などのために手術(大腿骨頭置換術など)を受ける患者を対象として、手術の際に摘出される大腿骨近位部を検体として使用し、そこから間葉系幹細胞を単離・培養することで、個々の患者由来の間葉系幹細胞を得た。そしてその細胞を用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った。今後は、年齢、既往歴、骨密度、血清マーカーなど同時に取得している臨床情報と遺伝子発現プロファイルとを統合することで、骨代謝・骨強度に関連する遺伝子や臨床的特徴を抽出することを計画している。

#### 〔研究経過および成果〕

骨粗鬆症とは、骨の脆弱性が増し、骨折の危険性が増大する疾患である。近年、その有病率は高齢化の進行とともに増加の一途をたどっている。

本研究では、超高齢化社会を迎え今もなお増え続けている骨粗鬆症や骨折を抑え、健康寿命を延伸することを長期的な方向性として見据えている。そしてそのために、骨の源である骨髄中の間葉系幹細胞に注目し、その機能を調べることを目的とした。

総合病院国保旭中央病院(千葉県旭市)において大腿骨近位部骨折や変形性股関節症のために股関節の手術を受ける患者(女性)を対象とした。患者・家族に研究の説明をし、同意を得た上で、手術の際に摘出される大腿骨頭を回収した(図1)。なお、当該機関における倫理審査委員会の承認は研究開始前に受けている。

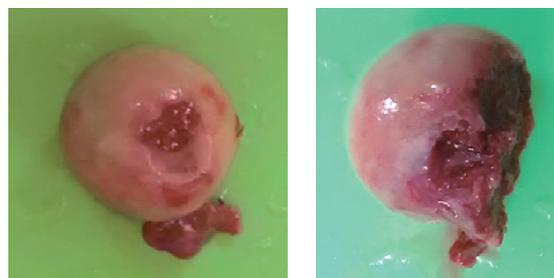


図1:手術で摘出された大腿骨頭

得られた大腿骨頭をいくつかの断片に切断し、内部の海綿骨の部分を骨切りばさみを用いて更に小切片に細断した。そして海綿骨の小切片を一定量使用して酵素処理を繰り返し、骨の表層の細胞を単離した。(図2)



図 2: 加温・振盪させながら酵素処理反応を複数回行う

得られた細胞懸濁液に対して更に溶血処理や洗浄を行った後に、フィブロネクチンでコーティングしたディッシュ上に播種し、間葉系幹細胞培養用の培地で培養した。コンフルエントにならないように 1~2 回継代し、一定数の細胞を回収した。

細胞は ISOGEN で回収し、その後 RNA を抽出した。得られた RNA を用いてマイクロアレイ用のプローブを作成し、Clariom S array (Affymetrix) チップを用いてマイクロアレイ解析を行った。(図 3)

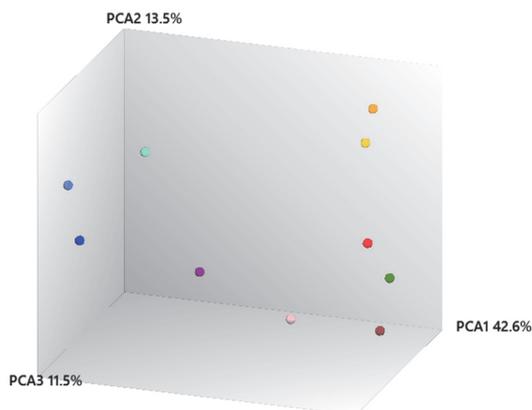


図 3: マイクロアレイの結果を用いた主成分分析。1 つの点が 1 つのサンプルであり、この図では 10 サンプルの結果を示す。

なお、初代培養の結果得られた細胞がたしかに間葉系幹細胞であることは、フローサイトメトリーを用いて確認した。

こうして骨組織由来の間葉系幹細胞の網羅的な遺伝子発現情報が得られた。

図 3 では 10 サンプルの結果を示したが、既により多くのサンプルを回収しているため、今後はそれらのサンプルの解析も進めてデータを統合する予定である。

また、これらの患者では間葉系幹細胞の初代培養を行う他にも、年齢、手術に至った病名(骨折もしくは変形性股関節症)、骨密度、併存疾患、内服薬など様々な臨床情報も取得している。今後はそれらの臨床情報を間葉系幹細胞の遺伝子発現プロファイルと統合することで骨代謝や骨強度に関連する遺伝子や臨床的特徴の抽出を行う計画である

[発表論文]

1. 未発表