

1-1-2 間葉系骨髄細胞，未分化細胞の細胞操作による組織再生

<研究概要>

正常ヒト骨髄間葉系幹細胞を用いて，骨芽細胞誘導培養系の培養下で，1～2日で紡錘形から敷石状に形態変化した。BMP4の単独投与ではデキサメタゾン存在下で骨形成能が認められた。そして，デキサメタゾン添加下でBMP-2，4，7の3種の混合系がもっとも石灰化を増大させ，von Kossa，染色によっても骨結節様の形成が確認できた。ヒト骨髄間葉系幹細胞に対して，高濃度のBMP-4単独でも軽度の骨形成が期待されるが，BMP-2，4，7が，骨芽細胞への分化誘導，石灰化能の発現に効果が高いと示唆された。一方，妊娠時にカフェン摂取させたラット頭蓋骨から分離した骨芽細胞は骨結節の形成能が低下していること，胎盤細胞のAngiotensin II 2型受容体遺伝子の発現を増大させること，を明らかにした。骨芽細胞への骨髄間葉系幹細胞の分化過程に関与する遺伝子を解明するためにAffymetrix GeneChipシステムを用いて発現遺伝子を半網羅的に調べた。IGF-IIとIGFBP-2遺伝子は期待した通りヒト骨髄間葉系幹細胞の分化過程にしたがってmRNAレベルが増大していた。発現遺伝子の中に骨粗鬆症に有効と報告されているIGF-IIとIGFBP-2が見いだされた。これらの遺伝子発現を確認するために，リアルタイム・ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)およびエンドポイントPCR法で調べたところ，GeneChip解析結果と良く一致していた。このことからGeneChip解析法は骨髄間葉系幹細胞の特異的細胞系列への分化を解明に有用であることが示唆された。ヒト骨髄間葉系幹細胞の分化促進と移植が骨再生療法に有用であることから，IGF-IIとIGFBP-2は，骨再生医療の骨形成促進物質として期待される。最近，骨粗鬆症ラットにIGF-IIとIGFBP-2の投与によって骨形成が促進されることが報告されており，動物実験を進めている。

<得られた知見>

間葉系幹細胞から骨芽細胞へと効率良く分化誘導できる実験系を確立してmRNAを回収し，蛍光標識を行ってmRNAレベルをAffymetrix GeneChipを応用して網羅的にトランスクリプトーム解析を行い，多数の遺伝子が発現した。これらの遺伝子群は，オートクリン的に働くと考えられる遺伝子も多く認められたことから，今後の解析によっては，間葉系幹細胞から骨芽細胞へと分化誘導に働く遺伝子もできると考えられる。現在のところ，IGF-1/IGFBP3に比べてIGF-II/IGFBP-2の発現が高く，骨粗鬆症ラットにIGF-IIとIGFBP-2の投与が骨吸収を抑制し，かつ骨形成に働くことが報告されており，興味深いことに，IGF-1/IGFBP3投与は腎臓での沈着物を形成するがIGF-IIとIGFBP-2は認められず安全性の高い骨の再生医療にIGF-IIとIGFBP-2の共投与は有用であると示唆された。