

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	800 千円
研究代表者 : 箭原 康人	所属 : 学術研究部医学系	職位 : 助教
研究題目 : 骨代謝疾患における破骨細胞ダイバーシティの解明		

研究概要

骨は形成と吸収のバランスによって維持されている。骨の吸収を担当する破骨細胞は、これまで Hematopoietic stem cells (HSCs) に由来するマクロファージ・単球系細胞から分化すると考えられてきた。しかし、研究代表者は破骨細胞の一部が、HSCs ではなく胎児卵黄嚢に発生する Erythromyeloid progenitors (EMPs) に由来することを世界に先駆けて発見した。本研究では、あらたに樹立するマウスモデルと一細胞 RNA 解析技術を駆使することで、由来の異なる二つの破骨細胞の独立した機能を解明する。起源によって定められた破骨細胞の未知の役割を解析することで、破骨細胞活性化に関わる基本原理および骨恒常性維持機構の解明し、骨代謝疾患に対する新しい治療戦略創出の一助とする。

成果要約

これまでの研究成果から、EMPs 由来と HSCs 由来破骨前駆細胞の特異的な遺伝子マーカーの同定に成功した。この発現マーカーを基準として、E14.5 野生型マウスの胎児体細胞懸濁液から EMPs 由来細胞および HSCs 由来細胞を単離培養することに成功した。両者は in vitro の実験系において破骨細胞へと分化することを確認した。現在は、両者の破骨細胞分化能と骨吸収能の定量化を行っている。

さらに EMPs 由来の細胞と HSCs 由来の細胞を別々の蛍光蛋白で標識し、両者の子孫細胞を追跡可能なマウスラインの作製を行っている。すでにノックインコンストラクトを有する ES 細胞の樹立を完了しており、今後は ES 細胞から生体マウスを得る予定である。樹立後は、このマウスを用いた生体ライブイメージングによって、骨の発生、成長、病態における破骨細胞の起源多様性を解析する予定である。起源の異なる破骨前駆細胞が、時間的、空間的に相互作用しながら、1つの破骨細胞を形成する過程を高解像度に追跡・観察する。

また EMPs 由来または HSCs 由来破骨前駆細胞に特異的な遺伝子発現をもとに、EMPs および HSCs 由来細胞を特異的に欠損するマウスを作成し骨における表現型を解析している。破骨前駆細胞の除去により、成熟破骨細胞が枯渇することで大理石病様の表現型が得られることが予想される。マイクロ CT を用いた骨形態計測や組織像を野生型と比較することで、骨恒常性維持における EMPs および HSCs 由来破骨細胞の関与を明らかにする予定である。さらに、これらのマウスモデルに骨粗鬆症や関節リウマチを誘導し、骨リモデリングおよび炎症性骨破壊に関与する破骨細胞の起源多様性を観察する。

以上の研究成果から得られた新たな知見をもとに、恒常性維持および組織修復・再生に対して保護的に働く破骨細胞を同定し、その機能を制御する治療法を開発することで、組織恒常性を維持し、理想的な組織修復過程を誘導する治療法を開発を目指す。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文】 Yasuhito Yahara, Tuyet Nguyen, Koji Ishikawa, Katsuhiko Kamei, Benjamin A. Alman. The origins and roles of osteoclast in bone development, homeostasis, and repair. <i>Development</i>. In press.</p> <p>【学会発表】 2021年9月 Origins and diversity of osteoclasts in homeostasis and disease 第17回 Bone Biology Forum</p> <p>2021年10月 胎児卵黄囊造血に由来する破骨細胞の同定 第64回秋季日本歯周病学会学術大会</p> <p>【受賞】 2022年 UJA 論文賞 受賞論文:Erythromyeloid progenitors give rise to a population of osteoclasts that contribute to bone homeostasis and repair</p>																																																																	
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p>	<p style="text-align: center;">執行額 (円)</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>																																																															
<p>【物品費】</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 70%;">Anti-NeuN Antibody, clone A60</td> <td style="width: 15%; text-align: right;">77827</td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> <tr> <td>ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover</td> <td style="text-align: right;">52800</td> <td></td> </tr> <tr> <td>THUNDERBIRD Next SYBR qPCR Mix</td> <td style="text-align: right;">95700</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MILLEX-LH</td> <td style="text-align: right;">95810</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.2 ml PCR Tube No Cap Thin-wall Non Sterile MaxyClear</td> <td style="text-align: right;">34980</td> <td></td> </tr> <tr> <td>真核生物 mRNA-Seq 解析</td> <td style="text-align: right;">281600</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BM リングロックチューブ</td> <td style="text-align: right;">16450</td> <td></td> </tr> <tr> <td>カルチャーカバー ポリエルリジン 96 枚</td> <td style="text-align: right;">12870</td> <td></td> </tr> <tr> <td>点灯管 FG-1P</td> <td style="text-align: right;">242</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ナビロール医療用ニトリル手袋</td> <td style="text-align: right;">11000</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ビオラモセルスクレーパー 100 本入り</td> <td style="text-align: right;">11550</td> <td></td> </tr> <tr> <td><合算>ペーパータオル</td> <td style="text-align: right;">618</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ドライアイス</td> <td style="text-align: right;">1056</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MAS コートスライドグラス</td> <td style="text-align: right;">1980</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BM リングロックチューブ</td> <td style="text-align: right;">16450</td> <td></td> </tr> <tr> <td>New シラン 3</td> <td style="text-align: right;">48400</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ビオラモピペット II 10ml</td> <td style="text-align: right;">8854</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ビオラモサクラチップ</td> <td style="text-align: right;">11968</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ビオラモサクラチップ</td> <td style="text-align: right;">11440</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PCRC レスチューブ</td> <td style="text-align: right;">6336</td> <td></td> </tr> <tr> <td><合算>PCRC レスチューブ</td> <td style="text-align: right;">2069</td> <td></td> </tr> </table>				Anti-NeuN Antibody, clone A60	77827		ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover	52800		THUNDERBIRD Next SYBR qPCR Mix	95700		MILLEX-LH	95810		0.2 ml PCR Tube No Cap Thin-wall Non Sterile MaxyClear	34980		真核生物 mRNA-Seq 解析	281600		BM リングロックチューブ	16450		カルチャーカバー ポリエルリジン 96 枚	12870		点灯管 FG-1P	242		ナビロール医療用ニトリル手袋	11000		ビオラモセルスクレーパー 100 本入り	11550		<合算>ペーパータオル	618		ドライアイス	1056		MAS コートスライドグラス	1980		BM リングロックチューブ	16450		New シラン 3	48400		ビオラモピペット II 10ml	8854		ビオラモサクラチップ	11968		ビオラモサクラチップ	11440		PCRC レスチューブ	6336		<合算>PCRC レスチューブ	2069	
Anti-NeuN Antibody, clone A60	77827																																																																	
ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover	52800																																																																	
THUNDERBIRD Next SYBR qPCR Mix	95700																																																																	
MILLEX-LH	95810																																																																	
0.2 ml PCR Tube No Cap Thin-wall Non Sterile MaxyClear	34980																																																																	
真核生物 mRNA-Seq 解析	281600																																																																	
BM リングロックチューブ	16450																																																																	
カルチャーカバー ポリエルリジン 96 枚	12870																																																																	
点灯管 FG-1P	242																																																																	
ナビロール医療用ニトリル手袋	11000																																																																	
ビオラモセルスクレーパー 100 本入り	11550																																																																	
<合算>ペーパータオル	618																																																																	
ドライアイス	1056																																																																	
MAS コートスライドグラス	1980																																																																	
BM リングロックチューブ	16450																																																																	
New シラン 3	48400																																																																	
ビオラモピペット II 10ml	8854																																																																	
ビオラモサクラチップ	11968																																																																	
ビオラモサクラチップ	11440																																																																	
PCRC レスチューブ	6336																																																																	
<合算>PCRC レスチューブ	2069																																																																	

	【旅費】		
	【謝金】		
	【その他】		
	合計	800000 円	