

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17064

研究課題名（和文）iPS細胞スフェロイドのサイズ制御と小分子化合物を応用した新規骨再生技術の開発

研究課題名（英文）Development of new bone regeneration technology applying iPS cell spheroid size control and small molecule compounds

研究代表者

松岡 秀（Matsuoka, Shu）

大阪大学・大学院歯学研究科・招へい教員

研究者番号：60845957

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：iPS細胞スフェロイドのサイズ制御を行ったのちにAlizarin Red染色を行なった結果、スフェロイドサイズの大きい700CSがサイズの小さい100CSと比べて有意に細胞外基質の石灰化を促進することが明らかとなった。  
また、小分子化合物であるiso-H-7は、骨芽細胞特異的遺伝子（Osterix, Type I collagen）の発現を有意に促進し、Alizarin Red染色によって細胞外基質の石灰化を有意に促進していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的はiPS細胞スフェロイドのサイズ制御と、ケミカルバイオロジーの観点から骨芽細胞分化誘導能を有する小分子化合物であるiso-H-7を用いることによって、iPS細胞スフェロイドを効率よく骨組織に自己組織化させることである。本研究は、iPS細胞の骨芽細胞分化機構を解明しながら、新規の骨形成促進剤の開発につながることを期待され、歯科領域にとどまらない多方面の骨組織再生医療の発展に貢献する可能性があるため、意義深い研究課題であるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：After controlling the size of iPS cell spheroids, Alizarin Red staining revealed that 700CS, which has a large spheroid size, significantly promotes calcification of the extracellular matrix compared to 100CS, which has a small spheroid size.  
In addition, iso-H-7, a small molecule compound, significantly promoted the expression of an osteoblast-specific gene (Osterix, Type I collagen) and significantly promoted the mineralization of the extracellular matrix by Alizarin Red staining.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：再生医学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

抜歯後の高度な顎堤吸収は、インプラント治療や補綴歯科治療を困難にする。そのため、歯槽骨の吸収を予防する技術、ならびに失われた歯槽骨を再生する技術の確立は補綴歯科臨床において重要な課題である。近年、この患者から作製される iPS 細胞を歯槽骨の再生医療に応用する戦略が注目を集めている。iPS 細胞は骨髄由来間葉系幹細胞と同様の分化能を持つことが明らかとなっており、さらに iPS 細胞塊からスフェロイドを作製し、試験管内で三次元震盪培養を行うことにより骨様組織に自己組織化誘導することが示されている。しかしながら、iPS 細胞スフェロイドの大きさや形状といった指標と分化誘導との関連性については明らかとなっていない。また、ケミカルバイオロジーの観点から、生体内分子の機能や反応を標的とした化合物の探索には、培養細胞を基盤とした化合物ライブラリーのスクリーニングが有効であり、骨代謝分野においても、スクリーニングによる骨芽細胞分化促進および破骨細胞分化抑制に関わる小分子化合物の発見が報告されている。これまでに申請者らは、1280 種類の小分子化合物ライブラリーから、独自のスクリーニングを行い、骨芽細胞分化に影響を及ぼす候補化合物として iso-H-7 を検出した。

そこで、骨組織へ効率よく自己組織化する iPS スフェロイドのサイズを検討し、また骨芽細胞分化誘導能をもつ小分子化合物である iso-H-7 を用いてスフェロイドの骨組織への自己組織化効率をより高める技術を開発することによって、新たな骨組織再生医療につながると考え、本研究を立案した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は iPS 細胞スフェロイドのサイズ制御と、ケミカルバイオロジーの観点から骨芽細胞分化誘導能を有する小分子化合物である iso-H-7 を用いることによって、iPS 細胞スフェロイドを効率よく骨組織に自己組織化させることを目的としている。

### 3. 研究の方法

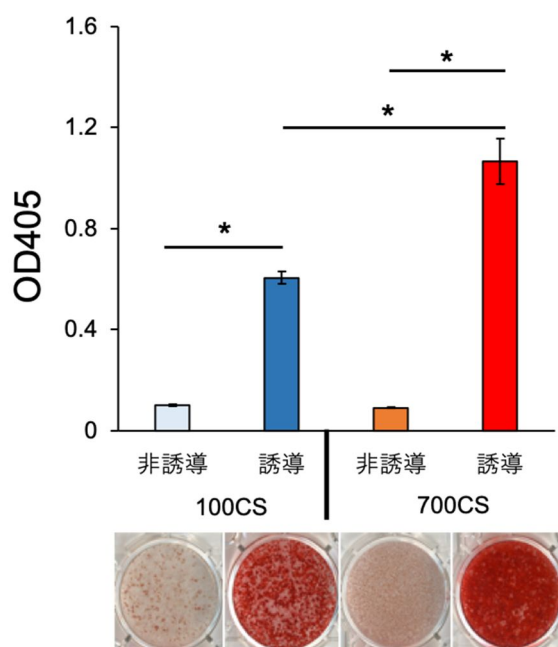
(1) iPS 細胞スフェロイドのサイズ制御を行う目的で、異なるサイズの空間形状が付与された丸底プレートを用いてマウス iPS 細胞からスフェロイドを作製する。スフェロイドサイズが骨芽細胞分化誘導に及ぼす影響を、分散播種および骨芽細胞分化誘導後に Alizarin Red 染色を用いて検討する。

(2) 小分子化合物の iso-H-7 がマウス iPS 細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響を Realtime RT-PCR 解析および Alizarin Red 染色を用いて検討する。

### 4. 研究成果

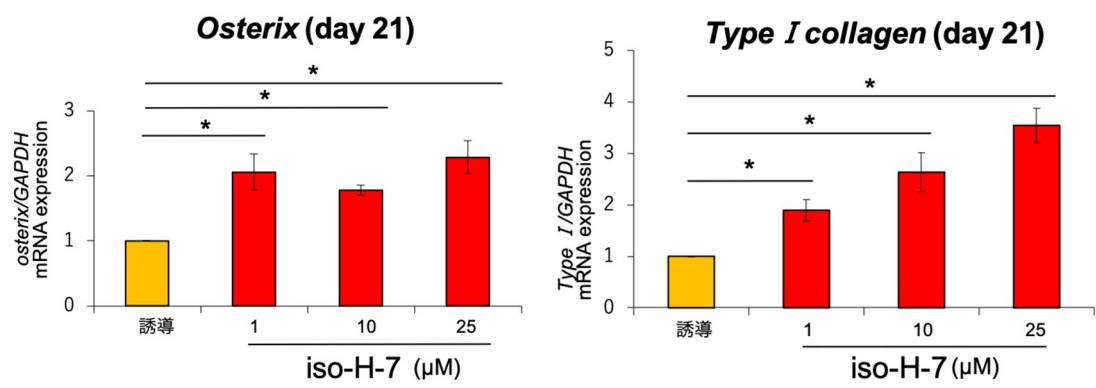
Alizarin Red 染色の結果、分化誘導 21 日目においてスフェロイドサイズの大きい 700CS が有意に細胞外基質の石灰化を促進することが明らかとなった ( $P < 0.01$ )。(図 1)

図 1



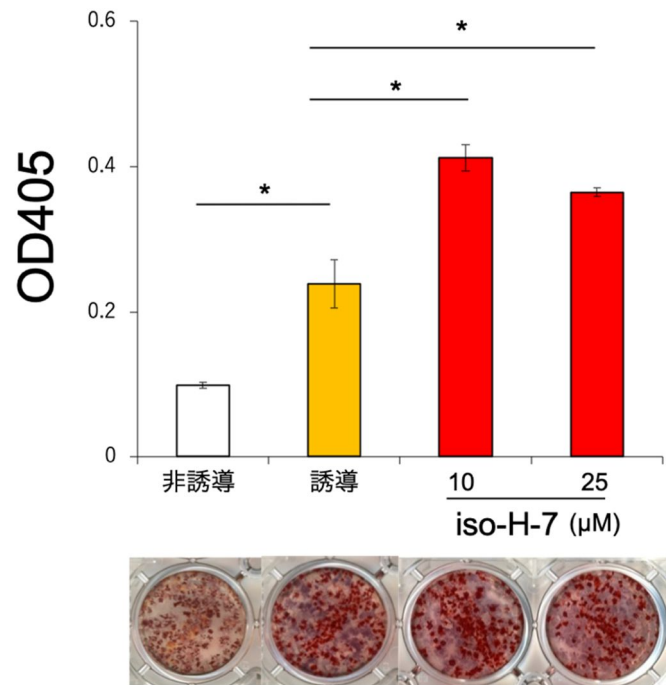
Realtime RT-PCR 解析の結果 , iso-H-7 は分化誘導 21 日目において , 用いたすべての濃度で骨芽細胞分化マーカー遺伝子である *Osterix*, *Type I collagen* の発現を有意に促進した ( $P<0.01$ ) (図 2) .

図 2



Alizarin Red 染色の結果 , iso-H-7 は分化誘導 28 日目において , 10, 25 μM の濃度で細胞が生き質の石灰化を有意に促進した ( $P<0.01$ ) (図 3) .

図 3



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------