

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10090

研究課題名（和文）幹/前駆細胞のシーケンシャルな体内移動を基軸とした新しい骨再生治療の開発

研究課題名（英文）Development of new bone regeneration treatment based on sequential movement of stem/progenitor cells within the body

研究代表者

藤尾 正人（FUJIO, Masahito）

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90612804

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：マウスの脛骨仮骨延長モデルを作製し、骨延長部における幹/前駆細胞の集積を解析した。延長前の骨切り時に、幹/前駆細胞の定化性を上昇させる因子の一つであるHigh Mobility Group Box Protein 1（HMGB1）の発現が上昇していることが明らかになった。HMGB1を骨延長部に投与することによって、生体に内在する幹/前駆細胞が延長局所に集積し、早期の血管網の構築、骨再生に寄与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
失われた組織に対する新しい治療法として、細胞移植治療が期待されている。しかし、細胞移植に伴う問題（安全性、経費、時間、品質の不安定性）が、臨床応用への障壁となっている。生体内に内在する幹/前駆細胞を体外に取り出すことなく、体内動態をコントロールすることによって、組織欠損部に集めることができれば、上述した問題点が解決できる。本研究が進めば、骨組織の再生のみならず、他領域の疾患についても応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：We created a mouse tibial distraction osteogenesis model and analyzed the accumulation of stem/progenitor cells in the gap of distraction osteogenesis. It was revealed that the expression of High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB1), a factor that increases the chemotaxis of stem/progenitor cells, increases during osteotomy prior to distraction period. It was shown that by administering HMGB1 to the bone extension site, stem/progenitor cells endogenous to the body accumulate at the extension site, contributing to the early construction of a vascular network and bone regeneration.

研究分野：骨再生

キーワード：骨再生 幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外傷や腫瘍により顎顔面領域に生じた大規模骨欠損の再建法として、一般的には自家骨移植が用いられる。しかし、骨採取部に加わる手術侵襲の問題が常につきまとう。骨採取の必要がない治療法として、骨延長術がある。骨移植なしに骨、神経、血管、皮膚、筋肉などすべての組織再生が認められ、その適応は極めて広く有用な組織再建法といえる。これまで、マウス脛骨骨延長モデルを中心に解析し、ケモカイン Stromal cell-derived factor-1(SDF-1)が血管内皮前駆細胞 (EPC) を、 Monocyte chemoattractant protein-1/-3(MCP1/-3)が間葉系幹細胞(MSC)を延長部に集積させる重要な因子であることを明らかにし、高い評価を得ている。また、MSCに間欠的な伸展刺激を加えることにより、骨形成、血管新生にとって極めて重要な働きを持つ成長因子(BMP-2/-4, VEGF-A, PDGF-AA)の産生量が増加することを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は骨延長術治療過程で起こる、シーケンシャルな幹/前駆細胞の体内動態を明らかにすることである。これまでの研究を進展させ、骨再生に特に重要な役割を果たすと考えられる、骨格前駆細胞(Skeletal Progenitor Cell;SPC)に着目し、その動態を明らかにする。生体内で目的とする幹/前駆細胞を順序正しく組織再生の場に移動させることで組織再生を促す、「幹/前駆細胞のシーケンシャルな体内移動を基軸とした新しい骨再生治療」の開発につなげる。

3. 研究の方法

骨延長における SPC の動態解析には、Nestin-GFP トランスジェニックマウスを使用した脛骨骨延長モデルを用いた。動態の観察は、凍結非脱灰標本を用いて組織学的に行った。骨延長での SPC の動態に加え、血管内皮前駆細胞、間葉系幹細胞の動態もあわせて評価した。骨髄内、骨膜、延長部で組織再生に関わるこれらの幹/前駆細胞群の動きを経時的にとらえた。各細胞の経時的な局在を明らかにし、幹/前駆細胞群の関係性を整理した。さらに、骨折モデル(小規模な骨再生モデル)、区域欠損モデル(メカニカルストレスを受けないモデル)と比較し、骨延長治療過程における SPC の動態の特異性について明らかにした。骨折モデル、区域欠損モデルとの比較において観察された SPC の動態について、メカニカルストレスによって活性化される代表的な因子(FAK, Rho-ROCK 経路)との関連性を解析した。免疫染色、ウェスタンブロット法で発現の有無や強度、局在の発現解析をした。また、それぞれのインヒビター(PF-573228, Y-27632)を骨延長モデルに投与することにより、SPC の動態に与える影響を明らかにした。これまでに幹/前駆細胞の集積に関わる因子として同定されている SDF-1, MCP-1/-3, HMGB1 を骨延長モデル、区域欠損モデルに投与し、幹/前駆細胞の集積が骨再生に与える影響を組織学的、X線学的に解析した。

4. 研究成果

HMGB-1 を骨延長モデルに投与することにより、骨延長部に PDGFR α - /Sca-1 陽性の MSC (図1)や VEGFR2/CD34 陽性の EPC (図2)といった組織再生に重要な役割を持つ細胞が集積してくることを示した。

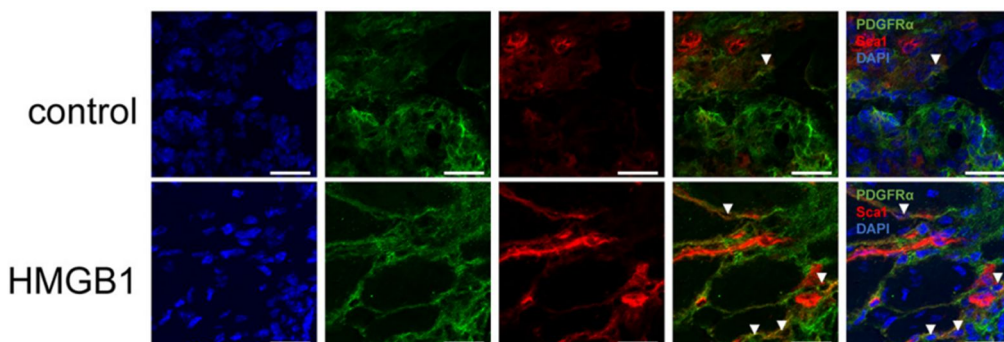


図1

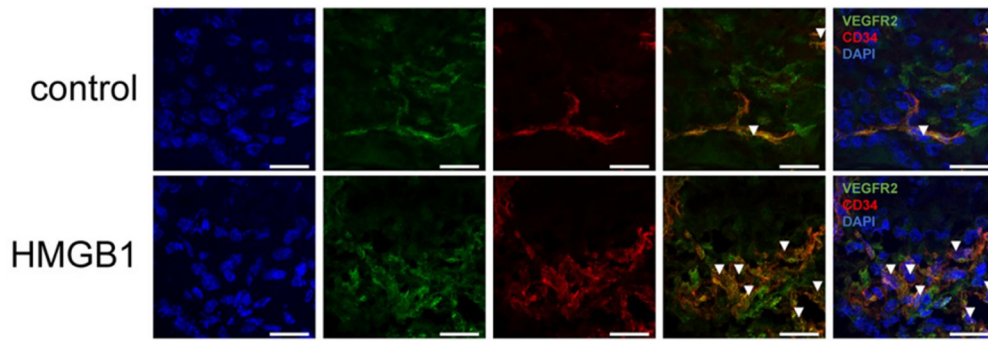


図 2

再生組織中に集まってきた、これらの幹/前駆細胞は、早期の血管再生（図 3）と、骨再生（図 4）に寄与し、骨延長治癒期間の短縮が期待できることが明らかとなった。

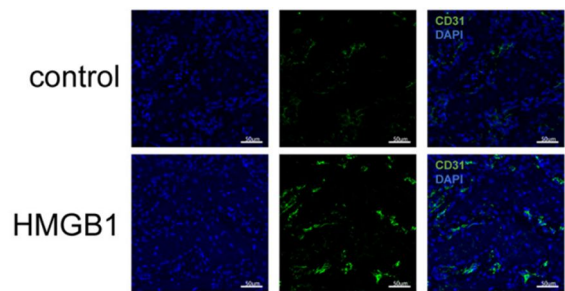


図 3

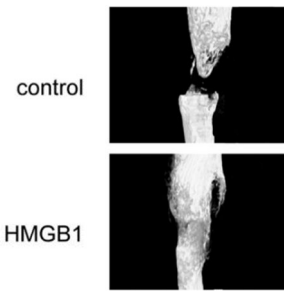


図 4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Qi Chang, Masahito Fujio, Makoto Tsuboi, Huiting Bian, Masashi Wakasugi, Hideharu Hibi	4. 巻 25
2. 論文標題 High-mobility group box 1 accelerates distraction osteogenesis healing via the recruitment of endogenous stem/progenitor cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cytotherapy	6. 最初と最後の頁 946-955
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcyt.2023.05.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chang Q, Fujio M, Tsuboi M, Bian H, Wakasugi M, Hibi H
2. 発表標題 High Mobility Group Box 1 promotes MSC migration capacity and accelerates angiogenesis during distraction osteogenesis
3. 学会等名 20th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research 2022年6月15日（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坪井亮仁, 藤尾正人, 荻須宏太, 若杉将史, 日比英晴
2. 発表標題 ROCK阻害薬が骨延長術治癒に及ぼす影響
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Qi Chang, Masahito Fujio, Makoto Tsuboi, Huiting Bian, Hideharu Hibi
2. 発表標題 High Mobility Group Box 1 (HMGB1) promotes bone regeneration during distraction osteogenesis via accelerating angiogenesis
3. 学会等名 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society 6th world congress 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔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
研究 分担 者	日比 英晴 (HIBI Hideharu) (90345885)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

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
---------	---------