

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591690

研究課題名（和文） ヒト骨髄由来破骨細胞前駆細胞の同定、及び細胞株の樹立

研究課題名（英文） Identification and cell line establishment of human osteoclast precursor cell

研究代表者

古川 満 (FURUKAWA MITSURU)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70468502

研究成果の概要（和文）： Abelson virus の cDNA の取得を試み、全長クローンの同定に成功した。Direct sequence 法を用いて遺伝子配列の解析を行ったところ、遺伝子配列には問題がないことが確認された。現在 cDNA の両端に制限酵素サイトを付して、レトロウイルスベクターへの挿入を試みているところである。レトロウイルスベクターが完成次第、ヒト由来単球細胞へ遺伝子導入し、不死化ヒト破骨細胞前駆細胞株の樹立を試みたいと考えている。

研究成果の概要（英文）： Acquisition of cDNA of Abelson virus was tried and it succeeded in identification of a full length clone. When gene sequences were analyzed using the Direct sequence method, it was checked that there is no problem in gene sequences. A restriction enzyme site is given to the both ends of cDNA now, and it has just been going to try insertion to a retroviral vector.

As soon as a retroviral vector is completed, we carried out transgenics to the human origin monocyte cell, and would like to try establishment of a immortal human osteoclast precursor cell stock.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：破骨細胞、不死化、Abelson virus、レトロウイルス

1. 研究開始当初の背景

破骨細胞は骨吸収能を有する生体唯一の細

胞であることから、その制御は骨量制御に直結する。破骨細胞分化を解析するにあたって

は、初代培養系に加えてマウスでは Raw264.7 細胞株を用いた解析が広く行われており、マイクロアレイ解析等で成果を上げている。しかしながら、ヒトにおいては有用な細胞株は存在していない

2. 研究の目的

本研究課題では不死化したヒト破骨細胞株を作製すること

3. 研究の方法

パピローマウイルス E6/E7 をヒト骨髄由来単球細胞へレンチウイルスで導入することを試みたが、導入効率の低さのためか、あるいは効果的な不死化が起こらなかったためか、不死化細胞株の樹立には至らなかった。そこで、不死化の手法を変更し、マウスで樹立されている細胞株 Raw264.7 細胞より不死化因子を同定し、ヒト細胞へ導入する方法へ切り替えることとした。Raw264.7 細胞は Abelson virus による白血病細胞株であり vAbl の恒常的な活性化により不死化していると考えられる。

4. 研究成果

Abelson virus の cDNA の取得を試み、全長クローンの同定に成功した。Direct sequence 法を用いて遺伝子配列の解析を行ったところ、遺伝子配列には問題がないことが確認された。現在 cDNA の両端に制限酵素サイトを付して、レトロウイルスベクターへの挿入を試みているところである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

1. 古川 満、鎌田 修博、蔵本 哲也、日方智宏、川崎 俊樹、千葉 和宏、脊椎疾患による痺れに対するプレガバリン投与の検討、東日本整形災害外科 25 巻 29-36、2013 年 査読有
2. Hikata T, Kamata M, Furukawa M Risk factors for adjacent segment disease after posterior lumbar interbody fusion and efficacy of simultaneous decompression surgery for symptomatic adjacent segment disease. J Spinal Disord Tech. 2012 in press. 査読有
3. Miyamoto H, Katsuyama E, Miyauchi Y, Hoshi H, Miyamoto K, Sato Y, Kobayashi T, Iwasaki R, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Fujie A, Hao W, Morioka H, Matsumoto M, Toyama Y, Miyamoto T. An essential role for STAT6-STAT1 protein signaling in promoting macrophage cell-cell fusion. J Biol Chem. 2012 Sep 21;287(39):32479-84. 査読有
4. Miyauchi Y, Miyamoto H, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Hao W, Hoshi H, Miyamoto K, Sato Y, Kobayashi T, Akiyama H, Morioka H, Matsumoto M, Toyama Y, Miyamoto T. Conditional inactivation of Blimp1 in adult mice promotes increased bone mass. J Biol Chem. 2012 Aug 17;287(34):28508-17. 査読有

5. Niki Y, Takeuchi T, Nakayama M, Nagasawa H, Kurasawa T, Yamada H, Toyama Y, Miyamoto T. Clinical Significance of Cartilage Biomarkers for Monitoring Structural Joint Damage in Rheumatoid Arthritis Patients Treated with Anti-TNF Therapy. *PLoS One*. 2012;7(5):e37447. 査読有
6. Nakayama M, Niki Y, Kawasaki T, Takeda Y, Horiuchi K, Sasaki A, Okada Y, Umezawa K, Ikegami H, Toyama Y, Miyamoto T. Enhanced susceptibility to lipopolysaccharide-induced arthritis and endotoxin shock in interleukin-32 alpha transgenic mice through induction of tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Res Ther*. 2012 May 21;14(3):R120. 査読有
7. Yoshida S, Iwasaki R, Kawana H, Miyauchi Y, Hoshi H, Miyamoto H, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Hao W, Kobayashi T, Sato Y, Miyamoto K, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Nakagawa T, Miyamoto T. PDGFBB promotes PDGFR α -positive cell migration into artificial bone in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 May 18;421(4):785-9. 査読有
8. Hoshi H, Hao W, Fujita Y, Funayama A, Miyauchi Y, Hashimoto K, Miyamoto K, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto H, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Morioka H, Kitagawa K, Nakayama KI, Kawamoto T, Sano M, Fukuda K, Ohsawa I, Ohta S, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Miyamoto T. Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. *J Bone Miner Res*. 2012 Sep;27(9):2015-23. 査読有
9. Hosogane N, Watanabe K, Tsuji T, Miyamoto T, Ishii K, Niki Y, Nakamura M, Toyama Y, Chiba K, Matsumoto M. Serum cartilage metabolites as biomarkers of degenerative lumbar scoliosis. *J Orthop Res*. 2012 Aug;30(8):1249-53. 査読有
10. Miyamoto H, Suzuki T, Miyauchi Y, Iwasaki R, Kobayashi T, Sato Y, Miyamoto K, Hoshi H, Hashimoto K, Yoshida S, Hao W, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Takeya M, Toyama Y, Miyamoto T. Osteoclast stimulatory transmembrane protein and dendritic cell-specific transmembrane protein cooperatively modulate cell-cell fusion to form osteoclasts and foreign body giant cells. *J Bone Miner Res*. 2012 Jun;27(6):1289-97. 査読有

〔学会発表〕（計5件）

1. 古川 満、鎌田 修博、蔵本 哲也、頸部脊柱管拡大術後の軸性疼痛に深層伸筋の末梢移動は関与するか、JSSR、2013年4月27日、沖縄
2. 大濱 玄、古川 満、蔵本 哲也、川崎俊樹、千葉 和宏、鎌田 修博、急速に進行した特発性脊髄血腫の1例、関東整形災害外科、2013年3月28日から29日、栃木
3. 古川 満、鎌田 修博、蔵本 哲也、川崎俊樹、千葉 和宏、プレガバリンは脊椎疾患の痺れを軽減させる新たな治療薬となりうるか、運動器疼痛学会、2012年11月17日から18日、東京
4. 古川 満、鎌田 修博、蔵本 哲也、川崎俊樹、千葉 和宏、プレガバリンは脊椎疾患の痺れを軽減させる新たな治療薬となるか？東日本整形災害外科、2012年9月21日から9月22日、群馬
5. 古川 満、鎌田 修博、蔵本 哲也、白石式アプローチによる片開き式脊柱管拡大術の術後軸性疼痛減少には深層伸筋の抹消移動は関与するか、JSTSS、2012年9月14日から2012年9月15日、青森

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

- 出願状況（計0件）
- 取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

古川 満 (FURUKAWA MITSURU)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：70468502

(2)研究分担者

堀内 圭輔 (HORIUCHI KEISUKE)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：30327564

（2010年度まで研究分担者として参画）

(3)連携研究者

宮本 健史 (MIYAMOTO TAKESHI)
慶應義塾大学・医学部・特任准教授
研究者番号：70383768