

細胞及び器官レベルにおける新規バイオミネラリゼーション実験系の構築

国際環境工学部 環境生命工学科 准教授 木原 隆典

1.はじめに

本研究は我々などのバイオミネラリゼーション(生物石灰化)に関するものであり、生物石灰化を解析するための生体外実験系の構築を目的として研究を行った。誤解を恐れず思い切って分かりやすく書くと、「骨ができる様子を見ることができる実験系を作りたい」ということである。

我々の骨はコラーゲンなどの成分とリン酸カルシウムであるハイドロキシアパタイトの混合組織であり、骨芽細胞と呼ばれる細胞によって形成される。骨の形成は、骨芽細胞が自身の外側でハイドロキシアパタイトを沈着させることから始まるが、この過程が石灰化の制御において一つ重要なポイントとなる。ハイドロキシアパタイトはリン酸イオンとカルシウムイオンの化学反応で生じる結晶であり、両イオンが必要以上の濃度で存在すれば生理条件下では自発的に進行する反応である。骨はこの単純な化学反応からなっているが、それだけでは我々の体のいたるところで骨が形成されてしまう(これを異所性石灰化という)。そのため、我々の体はこのハイドロキシアパタイトの形成をタンパク質や糖鎖など生体分子の力を借りて非常に精密・正確に制御している。本研究はこうした生体内で起きているハイドロキシアパタイトの形成制御の仕組みを探るためのものであり、将来的には異所性石灰化の形成抑制や骨の再生制御まで広げたいと思っている。

2.細胞培養系での骨組織実験系の構築

骨は骨芽細胞によって形成される説明したが、その骨芽細胞は間葉系幹細胞と呼ばれる幹細胞が分化することで生じる。この間葉系幹細胞は発生段階のみで存在する幹細胞ではなく、大人でも骨髄や脂肪を始め体中のいたるところに存在する幹細胞である。間葉系幹細胞のいいところは、幹細胞として体の中だけで働くのではなく、体内から外に取り出した細胞培養系でも骨芽細胞に分化し、さらに石灰化を形成することにある。この細胞培養系で形成される石灰化を詳しく見てみると、実は生体内的骨組織とほとんど同じ特徴・構造を持つことがわかった。形成されるリン酸カルシウムはハイドロキシアパタイトであり、間葉系幹細胞によって形成されるハイドロキシアパタイトは細胞集団の底部にでき、培養皿の底面と接合する(図1A)。

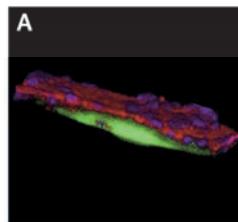


図1A

培養皿と接合しているハイドロキシアパタイトの塊はコラーゲンを含んでおらず、それより上部はコラーゲンを含んだハイドロキシアパタイトの層からなっている(図1B)。この層におけるハイドロキシアパタイトは特にコラーゲンの周辺で粒子状に高い密度で存在する。この石灰化と細胞からなる層構造は我々の体の中の骨と類似しており、細胞培養系でも間葉系幹細胞を利用することで骨が形成される様子を見ることが出来る。

こうした細胞培養系で形成される骨の構造は、間葉系幹細胞特有のもののかいいくつかの細胞を用いて確認したところ、MC3T3-E1細胞という骨芽細胞に分化する間葉系細胞株では同様な構造が見られた。しかしその石灰化は間葉系幹細胞のように培養皿底面と接合しておらず、間葉系幹細胞に比べると骨組織としては不十分であった。また、ヒト骨肉腫細胞株であるHOS細胞では、細胞層中に粒子状の石灰化が生じておりその構造は間葉系幹細胞のものとは似ても似つかない(図1C)。また、ここではあまり詳しく書けないが、同じ間葉系幹細胞でも由来によって、形成される石灰化の構造が異なる。このことから、石灰化を形成する細胞はどれも同じように働いているのではなく、それぞれの細胞でその形成制御が異なると言える。

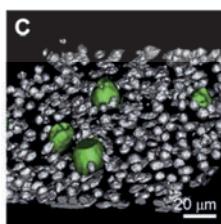


図1B

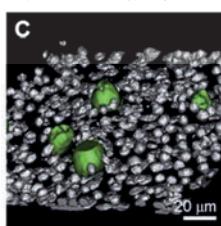


図1C

3.シミュレーションを利用した骨形成解析

間葉系幹細胞を培養して形成される石灰化は一様ではなく明らかな偏りがある。そもそも細胞自体が一様でなく色々な種類の混ざりものであるため偏りが生じて当たり前と言えなくもないが、こうした偏りから生体が有する骨組織形成制御について情報を得たい。特に偏りが細胞の移動・増殖・分化・ハイドロキシアパタイトの形成といった空間的・時間的に変化する細胞プロセスから生じていると思われるの、その制御について知りたい。そこで、細胞培養系で間葉系幹細胞が形成する石灰化をモデルとして、それを再現するためのシンプルなシミュレーターを新規に作成することにした。

画面上のピクセルを1つの細胞とし、この細胞が時間とともに移動・増殖・分化・ハイドロキシアパタイト形成するようなシミュレーターを作成した。最初に細胞(間葉系幹細胞)が移動・増殖し、分化誘導が生じて骨芽細胞に分化するとした所、ほぼ全ての細胞で細胞分化が生じ、培養系のように分布を持った骨芽細胞分化が見られなかった。そこで、様々な細胞分化の抑制因子をシミュレーション内に導入したところ、培養系で見られるような分化の分布が得られた。このことは、実際の細胞では骨芽細胞分化にあたって分化促進のみでなく分化抑制が空間的に働いていることを示している。さらに、骨芽細胞によるハイドロキシアパタイトの形成も単純な形成促進ではなく、周辺環境からの抑制効果が培養系における石灰化の分布を再現するのに必要であることがわかった。以上より、間葉系幹細胞はその石灰化の過程で時間的・空間的な抑制性の効果を制御して受けていると言える。

さらに作成した骨組織シミュレーターを用いてHOS細胞の石灰化の過程を再現したところ、間葉系幹細胞をモデルとして用いた制御因子のパラメーターを変化させることで石灰化の様子を再現することが出来た。このように、本シミュレーターを利用してすることで、様々な細胞で見られる骨芽細胞分化や石灰化形成がどのような因子によって制御を受けているかを同定することが可能となった。

4.おわりに

ここで紹介した骨組織形成のための実験系はあくまでの生体外環境で見るものであり、必ずしも我々の体の中で起きる現象をそのまま説明するものではない。しかし、これら細胞が培養系で示す石灰化は我々の体の中で起きている現象の各事象である。これを用いることで、我々の体の中の骨がどのように制御されているか、あるいは制御されなくなっているのか、どのように制御すれば回復するか、が見えてくると筆者は考えている。本稿で示した骨組織形成のための実験系が実際の骨制御を可能にする技術開発へと繋がることを願い、今日も研究に励みたい。

Profile

木原 隆典

Takanori Kihara

役職／准教授

学位／博士(学術)

学位授与機関／東京大学

<研究分野・専門>

組織工学・細胞生物学

<主要研究テーマ>

- ・細胞を利用した、骨形成および異所性石灰化形成に関する研究
- ・平滑筋細胞の形質転換制御機構の研究
- ・細胞のキャラクタリゼーションツールの開発

連絡先

TEL 093-695-3290

E-mail:tkihara@kitakyu-u.ac.jp