

平成 29 年 4 月 11 日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点  
平成 28 年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）  
所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科  
職名：教授  
氏名：上岡 寛

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：生骨組織中の骨細胞の微細構造・形態のライブイメージング手法の構築とメカノセンシング機能における意義
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 安達 泰治 教授
3. 研究期間：平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日

4. 研究経過及び研究成果：

多光子励起レーザー走査型顕微鏡 FLUOVIEW FV1200MPE(Olympus)を用いてニワトリ胚頭蓋冠の骨組織の観察を行った。本研究ではカルシウム蛍光指示薬 Fluo-8AM(AAT Bioquest)を用いた三次元タイムラプスイメージングで、頭蓋冠骨の幼弱骨細胞、成熟骨細胞ともに自律性のカルシウムオシレーションを認めた。流体剪断応力を負荷した結果、幼弱骨細胞と比較して成熟骨細胞では、細胞内カルシウムイオンの上昇率が有意に高い値を示した。次に骨細胞の成熟に伴って細胞内カルシウムイオンの上昇率が変化するメカニズムを解明するために、三次元培養した骨細胞様細胞株 MLO-Y4 を経時的に回収し、形態的な変化と骨細胞関連遺伝子の発現変化を評価した。長期間培養した群では短期間培養した群と比較して、MLO-Y4 細胞は細胞突起を伸展させ、周囲の細胞と連結するような成熟骨細胞と類似した特徴を持つようになった。また、real-time PCR によりコネキシン 43、I 型コラーゲン、オステオカルシンの mRNA 発現量が有意に上昇していた。これらの結果から、骨細胞ではその成熟に伴ってカルシウムイオン応答、コネキシン 43 の発現が亢進され、機械的刺激に対する反応が増強することで、石灰化の進行した深部骨組織の骨代謝能が高められている可能性が示唆された。今後は細胞間ネットワークの三次元的解析及び遺伝子発現解析から、情報伝達の方向や時間的変化、機能的変化をさらに明らかにしていきたいと考えている。

## 5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、  
特許取得等

### 学会発表

- ① 第34回日本骨代謝学会学術集会(2016年5月、大阪)
- ② オーストラリア・ニュージーランド骨代謝学会学術大会(2016年8月、ゴールドコースト、オーストラリア)
- ③ 第38回米国骨代謝学会学術大会(2016年9月、アトランタ、アメリカ)