T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ゼブラフィッシュの骨の再生と維持における体節由来の前駆細胞による骨芽細胞の供給
Title(English)	
著者(和文)	安藤和則
Author(English)	Kazunori Ando
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10693号, 授与年月日:2017年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:川上 厚志,德永 万喜洋,山口 雄輝,立花 和則,田中 幹子,粂 昭苑,鈴木 崇之
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10693号, Conferred date:2017/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生命情報　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	安藤 和則	指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	川上 厚志
		指導教員（副）： Academic Supervisor (sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

多細胞生物は、組織が損傷を受けると、損傷部位に失った細胞を供給し、組織の形態と機能を回復して、個体全体としての恒常性を維持しているが、一般に哺乳類の再生能力は限定的である。一方、脊椎動物の中でも、硬骨魚類や有尾両生類は驚くべき再生能力を持ち、いくつかの内臓器官をはじめ、付属肢も完全に再生できる。しかし、なぜ再生できる動物とできない動物がいるのかまだわかっていない。この疑問に答えるには、再生組織の細胞がどんな細胞に由来し、増殖、分化およびパターン形成するのかを理解する必要がある。

再生細胞の由来を検証するため、近年、再生動物における細胞系譜解析が盛んに行われている。アホロートルは肢を再生することができるが、その過程で、分化細胞が脱分化・増殖して、元の細胞と同系譜の細胞に再分化することが明らかにされた。また、ゼブラフィッシュも多様な組織を再生でき、特に鰭をモデルとした再生研究により、骨を作る骨芽細胞も、脱分化を行うことで再生組織の骨芽細胞を供給することが示された。その一方、ゼブラフィッシュの鰭再生では、既存の骨芽細胞の脱分化以外に、新規に骨芽細胞を産生する供給源の存在も示唆された。しかし、そのような骨芽細胞を産生する細胞の、アイデンティティ、性質、再生や非再生時における役割については明らかにされていなかった。

骨芽細胞によって作られる骨は、体の根幹をなす重要な組織である。骨はその頑強さを維持するために、骨芽細胞が絶えず供給され、骨組織をリニューアルし続けている。哺乳類における研究では、骨芽細胞は間葉幹細胞（MSC）に由来し、骨芽前駆細胞（OPC）と前骨芽細胞を経て、分化するとされている。一方、発生期の骨芽細胞は、すべての脊椎動物で、神経堤の一部や、特に体節の一部である硬節から生じることが知られている。しかし、成体における MSC や OPC の生体内における局在や機能はよくわかっておらず、また MSC や OPC の発生上の起源が神経堤や硬節とどのように関係するのか不明であった。

本研究は、ゼブラフィッシュの鰭の再生をモデルとし、その再生過程で誘導されることが示されていた遺伝子のひとつである*マトリックスメタロプロテアーゼ 9*（*mmp9*）の発現細胞を解析した。トランスジェニックを作製し、再生組織における *mmp9*(+)細胞を可視化すると、予想外に、*mmp9*(+)細胞は再生前から鰭の節（ジョイント）に局在しており、組織が損傷を負うと再生組織へ移動することがわかった。この *mmp9*(+)細胞の系譜を、Cre-*loxP* システムによる遺伝学的な細胞標識により追跡した結果、再生組織へ移動して、骨芽細胞へ分化することが明らかになった。つまり、*mmp9*(+)ジョイント細胞は骨芽細胞の前駆細胞、すなわち OPC として働くことが示された。さらに、これらの細胞は自己複製もして、新たな再生したジョイントの細胞にもなったこ

とから、OPC は自己複製能をもつことも示された。

また、NTR を介した遺伝学的な細胞除去によって、OPC が正常な数の骨芽細胞の供給と、石灰化した鰭条骨の再生にとって重要であることが示された。従来、ゼブラフィッシュの鰭条骨の再生において、既存の骨芽細胞が脱分化して、骨芽細胞が再生されることが報告されていたが、OPC は、骨の再生におけるもう一つの骨芽細胞の供給源であり、脱分化した骨芽細胞による再生を補完することが明らかになった。

一方、OPC は、除去されてもすぐに再生することが示された。OPC の前駆細胞が周辺の間葉細胞に存在すると考え、その系譜解析を行った結果、OPC が失われると、付近の間葉細胞から補充されることが解明できた。OPC とその間葉細胞という複数の前駆細胞プールが、骨の再生と維持を確実にする重要なメカニズムだと考えられる。

さらに、OPC の発生的起源を明らかにしようと試みた。鰭の骨芽細胞の発生的起源は体節にあることが以前に報告されていたため、OPC もまた体節に由来すると予想した。そこで、発生期の体節細胞を追跡した結果、OPC を生じたことから、OPC は発生期の体節に由来することがわかった。これにより、成体の骨芽細胞と発生期の骨芽細胞との関係が、連続したものであることがはじめて明らかになった。さらに鰭の成長期における細胞系譜解析と機能解析から、体節に由来する細胞は、成長過程で鰭のジョイントにニッチを作って休眠状態の OPC として備蓄されることがわかった。

また、成体の非再生組織における長期の細胞追跡を行うと、ジョイントに局在する OPC は、ゆっくりと骨芽細胞に分化することが示された。従って、OPC は再生時だけでなく、正常な組織が骨組織を新生する恒常性維持の際にも、骨芽細胞を供給していることが示唆された。

本研究により、ゼブラフィッシュにおいて、骨芽前駆細胞 OPC の存在、局在が明らかにでき、骨の再生と恒常性維持における働きを解明することができた。ヒトにおいても同様の骨芽前駆細胞 OPC と骨再生機構が存在することが推測され、哺乳類における同様の細胞が同定・解析されることで、さまざまの骨疾患の原因解明や、その治療へ向けた再生医療の発展が期待される。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生命情報　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	安藤　和則	指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	川上　厚志
		指導教員（副）： Academic Supervisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

Fish have the extraordinary ability to regenerate lost fins and other organs. Recent studies in zebrafish, which regenerates bones even after amputation of fins, have suggested that bone-forming cells, the osteoblasts, are generated by dedifferentiation of existing osteoblasts at injured sites. But, another report has suggested that de novo production of osteoblasts also occurs. The source of osteoblasts during tissue regeneration has been controversial.

Here, I have found a population of dormant progenitor cells that regenerates osteoblasts. Genetically engineered transgenic zebrafish showed that a population of cells marked by high expression of matrix metalloproteinase 9, an enzyme that catabolizes collagens, provides osteoblasts during regeneration. I termed these cells osteoblast progenitor cells (OPCs). I showed that eliminating OPCs prior to tissue injury significantly impaired bone regeneration, indicating their significant contribution to bone regeneration. In addition, long-term cell tracing showed that OPCs also supply osteoblasts for normal bone maintenance. Overall, the results showed that OPCs are also required for bone homeostasis.

I further investigated the developmental origin of OPCs and found that OPCs are derived from embryonic somites and reserved in niches of calcified tissues in adult animal as the source of osteoblasts. Embryonic somites are known to produce osteoblasts during vertebrate development, but its relationship to adult osteoblasts has not been known. The study revealed that the somites produce both the embryonic osteoblasts and the OPCs, which are preserved as the dormant cells for later production of osteoblasts in adult animal.

In conclusion, these findings suggest that a lineage of bone-forming cell, which are specified in embryonic somites, are maintained throughout the animal lives as progenitor cells for bone regeneration and also for bone maintenance. Considering the higher bone regeneration potential in zebrafish, OPCs will be a potential target for enhancing bone regeneration in mammals.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).