

Title	骨密度を高める新規骨基質およびそれを産生する骨芽細胞の同定
Sub Title	Identification of osteoblast lineage that produces high bone mineral density bones
Author	黒田, 有希子(Kuroda, Yukiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>骨芽細胞は骨基質を分泌し, 石灰化骨を産生する細胞である。マイクロCT装置を用いてマウス全身骨格の骨密度を定量的に可視化したところ, 耳小骨の骨密度が最も高かった。また, 骨に含まれるタンパク質の9割以上を占めるI型コラーゲンの発現部位可視化できるCol1a1-GFPマウスを観察した結果, 骨密度が高い耳小骨は周囲の骨に比べてI型コラーゲンの発現が極端に低いことが分かった。以上のことから, 耳小骨の骨密度が高い要因は骨基質タンパク質の違いにあると考え, 骨密度の高い耳小骨と平均的な骨密度の長管骨骨幹部のそれぞれから骨基質タンパク質を抽出し, 質量分析を行った。長管骨からは石灰化骨の主要細胞外基質であると考えられているI型コラーゲンのみが検出されたのに対し, 耳小骨からはI型に加えてII型コラーゲンも検出された。従来, II型コラーゲンは軟骨基質と考えられており, 石灰化骨の構成成分として検出されたことは意外な結果であった。さらにin situハイブリダイゼーションによりII型コラーゲン遺伝子Col2a1の発現を調べたところ, 長管骨では成長板の軟骨細胞でCol2a1が発現していたのに対し, 耳小骨では軟骨細胞に加え, 石灰化骨の細胞外基質を産生している骨芽細胞でもCol2a1が発現していることが確認できた。また, 間葉系培養細胞を用いた骨芽細胞分化誘導実験では, I型コラーゲンやII型コラーゲン, マトリックスプロテアーゼなど, 骨芽細胞を特徴づける遺伝子群の発現が細胞外基質の違いによって変化することが明らかとなった。この結果は, 細胞外基質の違いが骨密度の高い骨を産生する骨芽細胞への分化を誘導することを示唆している。以上の結果より, 我々はこのCol2a1を発現している骨芽細胞を骨密度の高い骨を作る新たな骨芽細胞として同定し, 「超石灰化骨芽細胞(hypermineralizing osteoblasts)」と名付けた。</p> <p>Osteoblasts are cells that produce bone matrix and form mineralized bones. We revealed that auditory ossicles were the most highly mineralized bones in the mouse skeleton by quantitative bone mineral density (BMD) analysis using micro CT. Moreover, analysis of Col1a1-GFP transgenic mice expressing green fluorescent protein under control of the type I collagen (Col1a1) promoter indicated that the auditory ossicles express extremely low levels of type I collagen relative to surrounding bones. These results suggest that the high BMD of auditory ossicles is caused by specialized collagen matrix. We therefore analyzed collagens from auditory ossicles, to gain insight into collagen subtypes produced by Col1a1low osteoblasts in high BMD bones. By mass spectrometry, the femoral diaphysis exhibited type I collagen only, a skeletal bone exhibiting average bone mineral density, while bony auditory ossicles produced both type I and II collagens, as major components of the collagen matrix. This was surprising because type II collagen is thought to be predominantly expressed in cartilage. In situ hybridization also demonstrated that osteoblasts in auditory ossicles express Col2a1. In vitro experiment using a mesenchymal stem cell line indicated that exogenously-added collagen matrix subtypes altered the expression pattern of type I and type II collagens, and osteocalcin. This suggests that characteristic collagen matrix of auditory ossicles can stimulate generation of Col2a1-expressing cells. From these data, we propose that these Col2a1-expressing cells, be called 'hypermineralizing osteoblasts'.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170290

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部共同利用研究室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	黒田 有希子	氏名 (英語)	Yukiko Kuroda		
研究課題 (日本語)						
骨密度を高める新規骨基質およびそれを産生する骨芽細胞の同定						
研究課題 (英訳)						
Identification of osteoblast lineage that produces high bone mineral density bones						
1. 研究成果実績の概要						
<p>骨芽細胞は骨基質を分泌し、石灰化骨を産生する細胞である。マイクロ CT 装置を用いてマウス全身骨格の骨密度を定量的に可視化したところ、耳小骨の骨密度が最も高かった。また、骨に含まれるタンパク質の 9 割以上を占める I 型コラーゲンの発現部位可視化できる Col1a1-GFP マウスを観察した結果、骨密度が高い耳小骨は周囲の骨に比べて I 型コラーゲンの発現が極端に低いことが分かった。以上のことから、耳小骨の骨密度が高い要因は骨基質タンパク質の違いにあると考え、骨密度の高い耳小骨と平均的な骨密度の長管骨幹部のそれぞれから骨基質タンパク質を抽出し、質量分析を行った。長管骨からは石灰化骨の主要細胞外基質であると考えられている I 型コラーゲンのみが検出されたのに対し、耳小骨からは I 型に加えて II 型コラーゲンも検出された。従来、II 型コラーゲンは軟骨基質と考えられており、石灰化骨の構成成分として検出されたことは意外な結果であった。さらに in situ ハイブリダイゼーションにより II 型コラーゲン遺伝子 Col2a1 の発現を調べたところ、長管骨では成長板の軟骨細胞で Col2a1 が発現していたのに対し、耳小骨では軟骨細胞に加え、石灰化骨の細胞外基質を産生している骨芽細胞でも Col2a1 が発現していることが確認できた。また、間葉系培養細胞を用いた骨芽細胞分化誘導実験では、I 型コラーゲンや II 型コラーゲン、マトリックスプロテアーゼなど、骨芽細胞を特徴づける遺伝子群の発現が細胞外基質の違いによって変化することが明らかとなった。この結果は、細胞外基質の違いが骨密度の高い骨を産生する骨芽細胞への分化を誘導することを示唆している。以上の結果より、我々はこの Col2a1 を発現している骨芽細胞を骨密度の高い骨を作る新たな骨芽細胞として同定し、「超石灰化骨芽細胞(hypermineralizing osteoblasts)」と名付けた。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Osteoblasts are cells that produce bone matrix and form mineralized bones. We revealed that auditory ossicles were the most highly mineralized bones in the mouse skeleton by quantitative bone mineral density (BMD) analysis using micro CT. Moreover, analysis of Col1a1-GFP transgenic mice expressing green fluorescent protein under control of the type I collagen (Col1a1) promoter indicated that the auditory ossicles express extremely low levels of type I collagen relative to surrounding bones. These results suggest that the high BMD of auditory ossicles is caused by specialized collagen matrix. We therefore analyzed collagens from auditory ossicles, to gain insight into collagen subtypes produced by Col1a1low osteoblasts in high BMD bones. By mass spectrometry, the femoral diaphysis exhibited type I collagen only, a skeletal bone exhibiting average bone mineral density, while bony auditory ossicles produced both type I and II collagens, as major components of the collagen matrix. This was surprising because type II collagen is thought to be predominantly expressed in cartilage. In situ hybridization also demonstrated that osteoblasts in auditory ossicles express Col2a1. In vitro experiment using a mesenchymal stem cell line indicated that exogenously-added collagen matrix subtypes altered the expression pattern of type I and type II collagens, and osteocalcin. This suggests that characteristic collagen matrix of auditory ossicles can stimulate generation of Col2a1-expressing cells. From these data, we propose that these Col2a1-expressing cells, be called 'hypermineralizing osteoblasts'.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Yukiko Kuroda	A novel osteoblast subpopulation initiates endochondral ossification by forming osteogenic capillaries	ASBMR 2017 Annual Meeting	September 8 - 11, 2017			
黒田有希子	内軟骨性骨化～軟骨が骨に置き換わる部位では特殊な骨芽細胞が働いていた	第 16 回松本ポーンフォーラム	2017 年 5 月 26 日			
黒田有希子	Col1a1low 骨芽細胞は内軟骨性骨化で働く新たな骨芽細胞群である	第 35 回日本骨代謝学会学術集会	2017 年 7 月 27 日-29 日			