

**【目的】** 間葉系幹細胞 (MSCs) は、その多分化能や組織再生能を利用した再生医療のツールとして注目され、骨疾患治療など多くの疾患に対し臨床試験が始まっている。しかし、MSCs の生体内での動態や分化能について未だ不明な点が多く、治療の有効性や作用機序が不明確なまま、臨床応用が先行しているケースも少なくない。そのため、安全で効果的な治療法の確立のため、生体内の MSCs の性質の解明が望まれている。MSCs は生体内で特殊な微小環境 (ニッチ) によって保持されている。そのニッチの一つとして知られる骨髄ニッチは、類洞血管内皮細胞 (SECs)、造血細胞、周皮細胞などにより形成され、様々な液性因子、サイトカイン、細胞間接着により緻密に制御されている。近年、骨髄内ニッチを構成する細胞群の特徴が明らかになりつつあるが、ニッチを構成する細胞の起源やニッチの維持に関わる分子機構は未だ不明である。本研究では、ニッチを形成する MSCs と SECs に高発現する CD73 に着目し、これら CD73 陽性細胞がどこから発生し、どのようにニッチを形成するかを明らかにし、骨髄ニッチ維持機構における役割の解明を目指した。

**【方法】** CD73 発現細胞がどのように組織障害に応答し、ニッチの再構築に関わるかについて、CD73-BAC-EGFP マウスに大腿骨骨折モデルを作製し解析した。7、14、28 日後に組織切片を作製し、免疫染色による細胞種の特定および造血幹細胞との関わり、骨髄内の MSCs、SECs が血管新生、骨・軟骨形成およびニッチの再構築にどのように寄与するか解析した。さらに、このマウスから CD73 陽性 MSCs と CD73 陰性 MSCs を単離し、*in vitro* での性質を比較するとともに、骨折部位に細胞を移植し *in vivo* における骨形成能を解析した。CD73 陽性細胞がニッチを形成する挙動を追跡するために、CD73CreERT<sup>2</sup> : R26-tdTomato マウスを作製した。胎生から段階的にタモキシフェンを投与し、骨組織への分布を解析した。

**【結果】** 骨修復における CD73-EGFP 陽性細胞の動態を解析したところ、CD73-EGFP 陽性細胞は骨芽細胞や軟骨細胞に分化し、新生骨軟骨形成に寄与していた。一方、骨折部位の新生血管は、術後 7 日目において EGFP の発現は見られなかったが、14 日目になると一部の新生血管において EGFP 発現が認められた。この EGFP 陽性血管周囲には、c-kit 陽性造血幹前駆細胞が集積していたことから、骨髄類洞血管における CD73 発現はニッチの再構築に重要な役割を示すと考えられた。細胞系譜解析では、tdTomato 陽性細胞は胎生 14.5 日から出現し、海綿骨、関節軟骨、滑膜において存在が確認された。また、tdTomato 陽性細胞は血管周囲に局在し、マウスの成熟とともに皮質骨内へ移動し骨細胞へと分化することが明らかとなった。本研究により、CD73 陽性細胞が骨髄ニッチ形成に果たす役割の一端を明らかにできた。今後は、細胞系譜解析をさらに進め、骨髄ニッチを構成する CD73 陽性細胞を包括的に解析する予定である。

骨髄内の MSCs・SECs の細胞系譜追跡実験

