様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和2年度）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	高田 仁実		

1. 研究種目名 基盤研究(C)(一般) 2. 課題番号 19K100293. 研究課題名 間葉系幹細胞の生体内挙動解析に基づく機能増強型移植細胞の作製4. 補助事業期間 令和元年度～令和3年度

5. 研究実績の概要

本研究は、脂肪由来間葉系幹細胞において、培養の有無および培養方法の違いがどのような性質変化を誘導するのかを解明することを目的としている。そこで今年度は、脂肪組織から採取した直後の間質血管細胞群(SVF)、接着培養で増殖させたSVF、浮遊培養したSVF、接着培養で増殖させた後に浮遊培養したSVFのシングルセル遺伝子発現データを解析し、発現変動する遺伝子のエンリッチメント解析を行った。まず、脂肪組織から採取した直後のSVFと培養後のSVFとで発現変動する遺伝子を比較した結果、培養後のSVFでは組織再生に関わる成長因子の発現が上昇する一方、炎症を誘導する因子の発現も上昇することが明らかになった。次に、接着培養したSVFと浮遊培養したSVFを比較すると、浮遊培養したSVFではケモカインや神経再生に関わる分泌性因子が高発現していることが明らかになった。また浮遊培養したSVFは接着培養したSVFと比較して、脂肪から採取した直後のSVFの遺伝子発現パターンを維持する傾向にあることが明らかになった。さらに、浮遊培養したSVFと接着培養の後に浮遊培養したSVFの遺伝子を比較すると、発現変動する遺伝子の数は極めて少なかったものの、浮遊培養した細胞においてマトリックスメタロプロテアーゼの発現や軸索誘導に関わる遺伝子の発現が上昇していることが示された。以上の解析により、培養前後および培養方法の違いによって誘導される遺伝子発現変化の詳細をシングルセルレベルで明らかにすることに成功した。

6. キーワード

間葉系幹細胞 シングルセル解析 下肢虚血

7. 現在までの進捗状況

区分 (3) やや遅れている。

理由
今年度は、様々な培養条件で増殖させた脂肪由来間質血管細胞群(SVF)で発現変動する遺伝子を同定するとともに、発現変動遺伝子のエンリッチメント解析から、それぞれの細胞の性質の違いを予想することに成功した。しかしながら、下肢虚血モデルマウスに移植した後のSVFで起こる遺伝子発現変化を同定するまでには至らなかった。現在、SVFを移植した筋肉組織を乖離し、移植細胞を取り出すための組織乖離条件を検討しており、実験条件が確立次第、早急に遺伝子発現解析を行う予定である。

2 版

8．今後の研究の推進方策

シングルセル遺伝子発現解析の結果から、浮遊培養したSVFでは軸索誘導や軸索再生に関わる因子の発現が上昇することが明らかとなった。そこで来年度は、新たに軸索再生モデルを用いて様々な培養条件で増殖させたSVFの治療効果を比較することを計画している。また来年度は、移植後のSVFで発現する遺伝子を解析し、移植前後でおこる遺伝子発現変化を同定することを計画している。これらの解析により、生体内においてSVFがどのように治療効果を発揮するのか、そのメカニズムを解明する。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

今年度は国際学会の参加を見合わせたため、使用予定であった旅費を次年度に繰り越している。またサンプル作成の遅れにより、今年度行う予定であった遺伝子発現解析の試薬代を繰り越したため、次年度に解析を行うことを計画している。

10．研究発表（令和2年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

11．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

12．科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14．備考

-