

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15883

研究課題名（和文）エリート脂肪幹細胞を用いた新規micro RNAの同定と血管新生療法への応用

研究課題名（英文）Identification of novel micro RNA obtained from proangiogenic adipose-derived stem cells

研究代表者

井上 己音（Inoue, Oto）

金沢大学・附属病院・医員

研究者番号：00781147

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト皮下脂肪組織より単細胞分画SVFを分離し、FACSにて表面抗原CD271陽性ならびに陰性のサブセットに群分けを行った。低酸素培養を行うか否かで更に群分けを行い、エクソソームを分離、内包されるmicro RNAについて解析を行った。CD271陽性サブセット由来のエクソソームは低酸素に限らず、高いin vivo血管新生能を示した。現在、micro RNA arrayによる解析を試みている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規の血管新生因子の探索に関して探索を行うことは、糖尿病などの増加や高齢化社会を迎えるにあたって増加の一途をたどる虚血性疾患の新規治療につながる意義をもつ

研究成果の概要（英文）：Human SVF cells were obtained subcutaneous adipose tissue. The, CD271+ and CD271- subsets were isolated from SVF by FACS. Both of them were cultivated in normal condition or hypoxic condition. Exosome were isolated using magnet beads. Micro RNAs obtained from exosomes were isolated and analyzed by microarray.

研究分野：再生医療

キーワード：血管新生 再生医療 細胞治療 脂肪幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

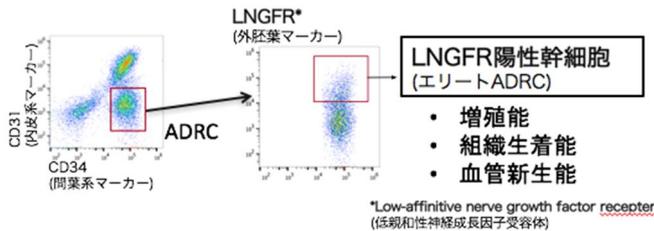
1. 研究開始当初の背景

患者の皮下脂肪組織より組織に常在する幹細胞(間葉系幹細胞)を分離し、虚血臓器に直接投与する幹細胞治療は、食の欧米化・高齢化の進行に伴い虚血性疾患が増加の一途を辿る本邦において期待を集めてきている。しかしながら、細胞治療は細胞採取に伴う侵襲・コストの問題から、必要な際に反復治療ができないという点が最大の課題点である。そこで我々は、幹細胞移植を要さない再生医療の実現のために、本研究を着想した。

近年、幹細胞特有の再生治療効果のメカニズムとして、多彩な遺伝子発現制御ネットワークを形成する小分子 RNA(miRNA)による機能性核酸の作用が注目されている。申請者は、ヒト脂肪組織幹細胞の横断的な機能解析により、虚血臓器において高い組織定着能を有しかつ血管新生効果をもつエリート幹細胞(LNGFR 陽性幹細胞)を同定した(図1)。本研究では、エリート幹細胞の有する高い治療効果を miRNA が介するとの仮説を検証することにより、細胞移植を必要としない、低侵襲かつ反復投与可能で、より高い直接効果を期待できる血管再生医療を実現できる可能性がある。

図1 ヒト脂肪組織由来のLNGFR陽性幹細胞は、高い血管再生効果を持つ

(1) エリートADRCの同定



2. 研究の目的

LNGFR 陽性幹細胞の exosome に特異的に内包されている miRNA を同定し、その血管新生効果について検証する

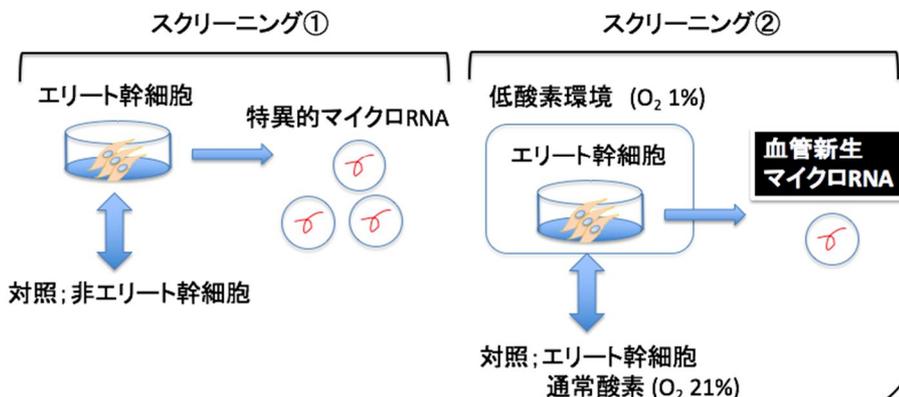
3. 研究の方法

まず、すでに樹立済みのヒト LNGFR 陽性ならびに陰性幹細胞の miRNA プロファイルを比較解析することで、LNGFR 陽性幹細胞にのみ特異的に発現する miRNA を探索・同定する。幹細胞由来の血管新生効果を有する miRNA の報告に関してはいまだ知見に乏しく、かつサブセット分類を伴う検討がなされていない。本研究では、多様な ADRC 細胞群の中で、血管新生能に特化した LNGFR 陽性幹細胞に注目し、より選択性の高いスクリーニングを行えることで独自性が高い。

次に、虚血組織での血管新生を模するため、LNGFR 陽性幹細胞を低酸素環境に暴露し、そこで発現が亢進する miRNA を選定する。

この2段階のスクリーニングにより、独自性・新規性が高く、また血管新生能に特化した miRNA を同定することが可能であると考えられる(研究概要図)。

研究概要図；新規マイクロRNAのスクリーニングと治療応用



4. 研究成果

ヒト皮下脂肪組織より単細胞分画 SVF を分離し、FACS にて表面抗原 CD271 陽性ならびに陰性のサブセットに群分けを行った。低酸素培養を行うか否かで更に群分けを行い、エクソソームを分離、内包される micro RNA について解析を行った。CD271 陽性サブセット由来のエクソソームは低酸素に限らず、高い *in vivo* 血管新生能を示した。現在、micro RNA array による解析を試みている。

得られた知見に関して、日本再生医療学会や米国心臓病学会にて発表を開始している。Microarray の結果ならびに同定した miRNA の *in vivo* への投与実験を終了ののち、論文投稿の予定としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Oto Inoue
2. 発表標題 Human CD271-positive Adipose Derived Stem Cells are the Angiogenic Subset with Less-aged and Less-fibrotic gene expression profile
3. 学会等名 AHA scientific sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上己音
2. 発表標題 ヒト脂肪組織由来間質細胞中の血管新生サブセットの同定
3. 学会等名 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考