

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11544

研究課題名(和文)高再生能を持つ両生類における、体性幹細胞カタログの作成

研究課題名(英文)Creating a catalog of somatic stem cells in amphibians with high regenerative potential

研究代表者

伊藤 弓弦 (Ito, Yuzuru)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：30500079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：再生医療を行う上で重要な現象として血管網の形成がある。本研究では、実際に血管網を形成する上で、両生類の肢芽再生にも大きく関与するが、その詳細な機能までは分かっていなかった複数の分泌因子が血管網構築に大きく関与することが明らかになった。また、血管形成過程(増殖、遊走、安定化)において、それぞれ重要な因子が存在し、その一部のみでは正常な血管形成が起きないことが明らかになった。特にこれまで多くの知見が報告されている「VEGF、IGF、EGF、bFGF」などは、血管形成の初期段階である増殖機において特に大きく関与をしているが、その後の遊走や安定期には別の因子が重要となってくることも明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、種をまたいで形態形成に重要な因子が存在していることが改めて分かり、目的に応じて適切なモデル系を選択/構築することで研究を進めることの優位性が示された。また、今後再生医療等の治療効果をあげるためには、それらの因子の時間的な妥当性や協調作用まで考えて進めなければならないことも明らかになった。

研究成果の概要(英文)：An important phenomenon in regenerative medicine is the formation of vascular networks. In this study, it was clarified that multiple secreted factors, which are also greatly involved in the actual formation of the vascular network and in amphibian limb bud regeneration, but whose detailed functions were not yet known, are greatly involved in the construction of the vascular network. In addition, it is now clear that there are factors that are important in the process of angiogenesis (proliferation, migration, and stabilization), and that normal angiogenesis does not occur when only some of these factors are involved. In particular, it became clear that factors such as VEGF, IGF, EGF, and bFGF, which have been widely reported, are particularly involved in the proliferative phase, the initial stage of angiogenesis, while other factors are important in the subsequent migratory and stabilization phases.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：再生 間葉系幹細胞 哺乳類 両生類 遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

近年ヒト幹細胞を応用した再生医療研究が盛んに行われている。目的臓器・組織への分化誘導技術開発には大きな発展があるが、まだ3次元的な構造を再現するには至っていない。その理由の一つに、そもそも3次元的な構造に関しての再生能が低い哺乳類の組織、細胞を用いて、自前での器官再生研究を行うのには限界があることが考えられており、その点に関してのブレイクスルーが求められていた。

### 2. 研究の目的

上述の問題点を打破するため、我々哺乳類と同じ脊椎動物で有りながら高再生能を有する両生類の知見も参考に、その再生能を担うと考えられる体性幹細胞の性質に関して洗い直すことにした。さらに、近年の再生医療研究推進をうけ蓄積された、ヒト間葉系幹細胞に関する知見と統合し、体系化することで高再生能の実体の解明を目指すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

まず始めに、両生類を用いた解析に先んじて、ある程度系が確立されている哺乳類培養細胞を用いて各種条件設定を行った。特に3次元的な構造を再現する上で重要な構成因子である「血管形成」に関してその *in vitro* 血管網形成実験系（図1）やマーカー因子群、シグナルパスウェイの整理を進めた。そもそも確立された系が存在しないため、手順書化を進め汎用的に使用出来るようにした。

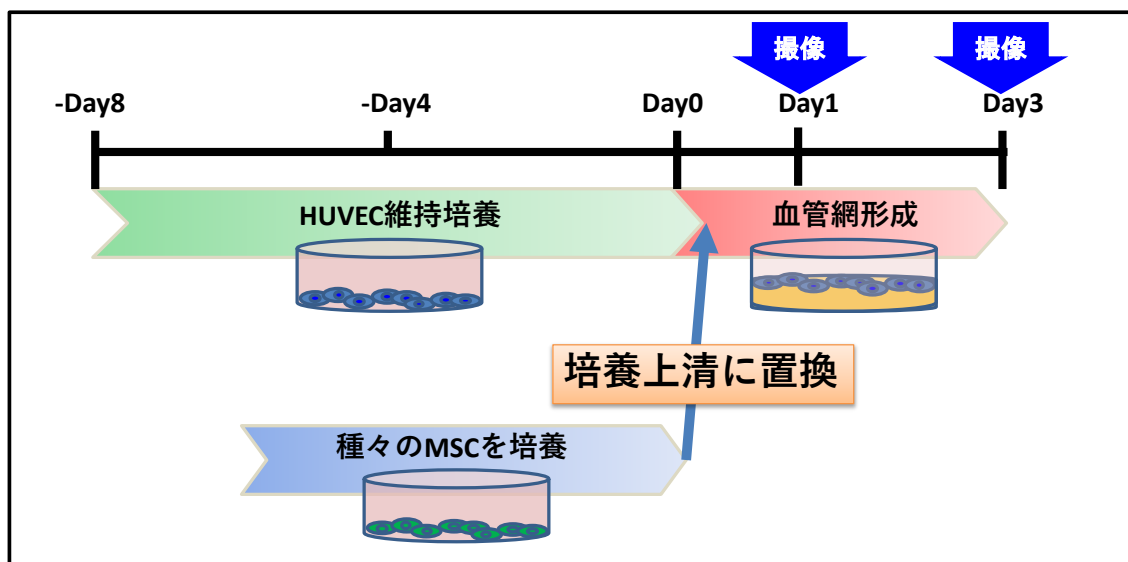


図1 *in vitro* 血管網形成実験系

その上で、3次元構造に対する酸素／栄養供給に重要な血管形成に着目し、重要と思われる因子候補を数種、同定した。その上で、その両生類ホモログに関して、発現領域や機能に関しての解析をデータベースの情報を用いてすすめた。同定した因子候補に関して、*in vitro* 血管網形成実験系を駆使し、その機能解析を行った。

#### 4. 研究成果

その結果、両生類の肢芽再生にも大きく関与するが、その詳細な機能までは分かっていなかった複数の分泌因子が血管網構築に大きく関与することが明らかになった。(図2)

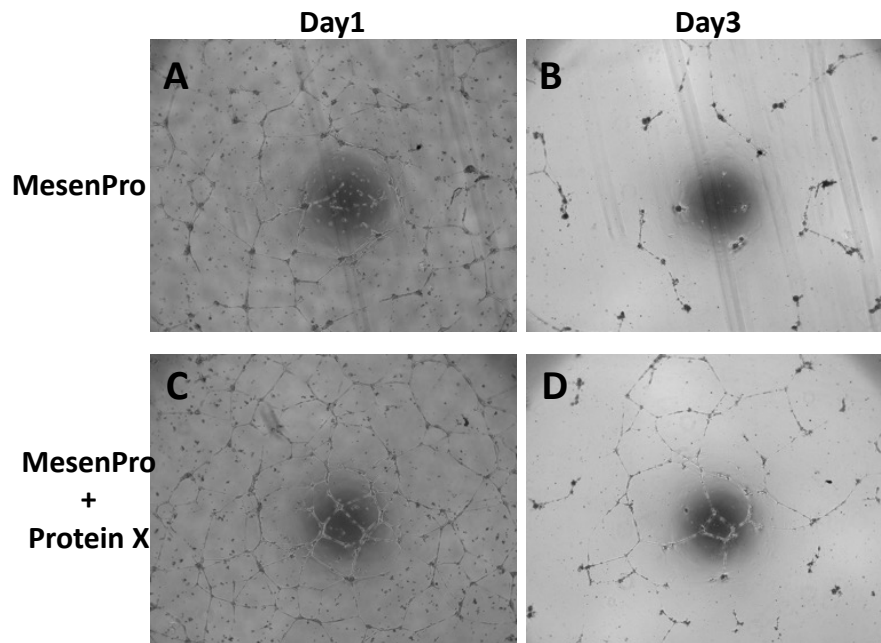


図2 血管網形成の重要な因子

A, B: 間葉系幹細胞用培地 (MesenPro) を用いて形成させた血管網。A: 一日目の像、B: 3日目の像  
C, D: MesenPro に今回同定した分泌因子 (protein X) を添加して、形成させた血管網。C: 一日目の像、D: 3日目の像。発見した Protein X により、血管網構築が亢進された。

また、血管形成過程 (増殖、遊走、安定化) において、それぞれ重要な因子が存在し、その一部のみでは正常な血管形成が起きないことが明らかになった。特にこれまで多くの知見が報告されている「VEGF、IGF、EGF、bFGF」などは、血管形成の初期段階である増殖機において特に大きく関与をしているが、その後の遊走や安定期には別の因子が重要となってくることも明らかになった。その上で、今後再生医療等の治療効果をあげるためには、それらの因子の時間的な妥当性や協調作用まで考えて進めなければならないことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsunami Masatoshi, Suzuki Miyuki, Haramoto Yoshikazu, Fukui Akimasa, Inoue Takeshi, Yamaguchi Katsushi, Uchiyama Ikuo, Mori Kazuki, Tashiro Kosuke, Ito Yuzuru, Takeuchi Takashi, Suzuki Ken-ichi T, Agata Kiyokazu, Shigenobu Shuji, Hayashi Toshinori	4. 巻 26
2. 論文標題 A comprehensive reference transcriptome resource for the Iberian ribbed newt <i>Pleurodeles waltl</i> , an emerging model for developmental and regeneration biology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DNA Research	6. 最初と最後の頁 217 ~ 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/dnares/dsz003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ninomiya Hiromasa, Intoh Atsushi, Ishimine Hisako, Onuma Yasuko, Ito Yuzuru, Michiue Tatsuo, Tazaki Akira, Kato Masashi	4. 巻 250
2. 論文標題 Application of a human mesoderm tissue elongation system in vitro derived from human induced pluripotent stem cells to risk assessment for teratogenic chemicals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 126124 ~ 126124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2020.126124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goto T, Ito Y, Michiue T	4. 巻 60(4)
2. 論文標題 Roles of <i>Xenopus</i> chemokine ligand CXCLh (XCXCLh) in early embryogenesis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dev Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 226-238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12432	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------