

埼玉大学と埼玉県立大学の共同研究報告書

適宜スペースを調整して1頁以内で記入して下さい

	氏名	所属・職名
1. 研究担当者	埼玉県立大学研究者	金村 尚彦 保健医療福祉学研究科・教授
	埼玉大学研究者	高橋 朋子 大学院理工学研究科・准教授
2-1. 研究課題	マイオカインに着目した運動による軟骨変性抑制効果のメカニズム解明	
2-2. 研究目的	マイオカインが軟骨変性を抑制する作用メカニズムの一端を明らかにすること	
2-3. 研究内容	トレッドミル運動時の骨格筋由来分泌因子推定と軟骨細胞に及ぼす影響の検証	
3. 当概年度に実施した内容 共同で記入して下さい	<p>1. RNA-sequence 解析によるトレッドミル運動時の骨格筋由来分泌因子推定</p> <p>公共データベース (Gene Expression Omnibus) に存在するトレッドミル運動後の骨格筋における RNA-sequence データセットを取得し、運動群と対照群の比較により発現変動遺伝子を抽出した。加えて、Gene Ontology 解析を実施し、分泌関連遺伝子を同定した。これにより、トレッドミル運動に伴い発現変動する分泌関連遺伝子を網羅的に抽出し、筋由来分泌因子の候補分子を推定した。</p> <p>2. 筋管細胞由来分泌因子が軟骨細胞に及ぼす影響の検証</p> <p>実験動物の膝関節より単離した軟骨組織から軟骨細胞を分散し、第1継代まで増殖させた。その後、10 ng/mL の IL-1β を軟骨細胞に添加することで変形性関節症における軟骨細胞の炎症状態を模倣した。一方で、C2C12 筋芽細胞を培養し、筋管細胞へと分化誘導させた。筋管細胞を形成した後に、無血清培地で24時間 incubate することで筋管細胞由来の分泌因子を分泌させた。その後、回収した順化培地を変形性関節症を模倣した軟骨細胞に添加した。添加から24時間培養後に total RNA を抽出し、ターゲット遺伝子を <i>Mmp13</i>, <i>Timp1</i>, <i>Col2a1</i> とし、リファレンス遺伝子を <i>Gapdh</i> として、$\Delta\Delta Ct$ 法による RT-qPCR にて遺伝子発現を解析した。</p>	
4. 当該年度に得られた成果	RNA-sequence 解析では、統計学的に有意に増加する分泌因子として51個が同定され、Primary score による top 10 には軟骨細胞との関連が示される因子が複数含まれた。軟骨細胞における遺伝子発現解析では、軟骨組織の保護因子である <i>Timp1</i> の発現が順化培地添加により有意に増加し、 <i>Mmp13</i> および <i>Col2a1</i> では有意差な発現変化を認めなかった。	
5. 現状の課題と今後の見直し・展望	<p>本研究結果における <i>Timp1</i> の発現増加を蛋白質レベルでの解析にて証明する必要がある。また、現在進めている筋収縮由来の分泌因子がもたらす軟骨細胞への影響について検証を行い、運動がもたらす軟骨保護作用の分子基盤を解明する。</p>	