

令和4年3月18日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号. 202180156

氏名 山本 亮介

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

1. 派遣先：都市名 トロント (国名 カナダ)
2. 研究課題名（和文）：ヒト胎児蝸牛器官培養モデルを用いた有毛細胞再生治療法の確立
3. 派遣期間：令和3年11月24日 ~ 令和4年3月8日 (105日間)
4. 派遣先機関名・部局名：トロント大学 Dabdoub Lab
5. 派遣先機関で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

胎生8週から20週のヒト胎児の内耳がサンプルとして手に入るが、主に胎生17週から20週のサンプルの卵形嚢のサンプルを収集した。まずは既に派遣先研究機関にて培養方法が確立されつつある卵形嚢の培養を行い、定常状態の卵形嚢における細胞の転写産物、オープンクロマチン領域の多様性を10X Genomics scMultiome キットを用いて解析することとした。様々な細胞単離条件を試み、卵形嚢の細胞単離に最適な方法を検討した。当初は input 前の細胞数が1,000個以下になってしまうため難渋したが、遠心分離機の回転数や時間の調整、ピペッティングの回数などを調整することで1サンプルにつき6,000個の細胞を回収できるようになった。その方法を用いて、scMultiome のライブラリ作成を行う予定である。3月中に本実験を行う予定で、シーケンシングは Genomics Facility にて行われるため、FASTQ ファイルが4月以降に戻ってきて in silico 解析に移行する予定である。また、4月以降のデータ解析に向けて、最適な単一細胞マルチオーム解析のパイプラインに関して検討した。様々な方法をサンプルデータを用いて解析を行なった結果、Seurat, Signac と呼ばれるソフトウェアを基本としたパイプラインを構築した。10x Genomics 社の公開しているサンプルデータを用いて、各種ソフトウェアがラボの解析用 PC でワークすることを確認した。また、以前より派遣先研究機関にて解析が行われているヒト成人卵形嚢の single cell RNA-seq のデータ解析にも携わることとなった。そのサンプルは聴神経腫瘍の患者の手術の際に同意を得て得られたサンプルである。マウスとヒトの single cell RNA-seq データの比較を行い、ヒトサンプルにはマウスのサンプルにはない特徴的な細胞集団があることを示唆するデータを得た。また、ヒト有毛細胞にはマウス有毛細胞にない特徴的な遺伝子発現があることを確認し、マウスでなくヒトサンプルを用いた研究を行うことの重要性を確認した。

## 6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

最も成果発表が近いのは、ヒト成人卵形嚢を用いた研究である。既に manuscript の大部分は記載が終わっており、派遣者が担当しているヒト・マウス異種間トランスクリプトームの比較の成果を纏めて、4月中には peer-reviewed journal に投稿する予定である。

ヒト胎児卵形嚢の研究に関しては、4月以降 scMultiome データの解析を行う。本実験で得られるデータは、世界初のヒト胎児内耳の単一細胞マルチオミクスデータであり非常にユニークなデータが得られると思われる。卵形嚢の解析では恒常状態のヒト卵形嚢の遺伝子発現、エピゲノム状態の多様性を調べる予定である。また、4つのサンプルを用いて実験を行うことで、個体差の有無にも着目する予定である。

また、同時に蝸牛を用いた実験も進めていく予定であり、まずはヒト蝸牛の培養条件を検討していく。派遣先研究機関にて培養方法が確立されつつある卵形嚢の培養方法をベースに最適な条件を検討する。また、培養した蝸牛をアミノグリコシド製剤で有毛細胞選択的に障害した後、マウスで支持細胞から有毛細胞への分化転換を誘導することが確認されている Notch 阻害薬を用いて、ヒト胎児蝸牛の有毛細胞再生能を検討する。検討する胎齢は、マウスでの支持細胞分化転換能が著しく低下する胎齢に相当する、胎生 15 週から 18 週を対象とする。支持細胞分化転換能が低下する前後の胎齢を同定した後、卵形嚢サンプルと同様に scMultiome 解析を行う予定である。また、本滞在中に派遣者が検討した異種間比較手法を用いて、有毛細胞再生種であるトリと、有毛細胞非再生種であるヒト・マウスの三種間でトランスクリプトームの比較を行う予定である。

## 7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムで、採用者は初めての海外長期滞在・海外での研究を経験することができた。インターネットで世界中と繋がることができるようになった現代と云えど、やはり実際に海外で経験することは非常に大きい。まず言語の面では、事前にオンライン英会話などで日本にいる時にある程度トレーニングをしていたが、実際にカナダの人々と喋っていると聞き取れないことが非常に多いことがわかった。日本の英会話サービスは英語学習者に向けてわかりやすく喋ってくれていることが多く、自分の英語聴取能力を過剰評価してしまう傾向にあると思われる。カナダには世界中から人々が集まってきており、様々なアクセントの英語が飛び交っていることや、遠慮のないナチュラルな速度で喋りかけられることから、日本ではなかなか経験することのできない英語でのコミュニケーションの難しさの現実を体験することができた。この言語の壁は数ヶ月で乗り越えられるようなものではないため、とにかく早い段階で世界中の英語話者とのコミュニケーションを念頭においた英語学習をする必要があることがわかった。

また、研究面においても大きな違いを感じることもできた。採用者が日本にいたラボではできるだけ自分の研究に関しては自分で全てをやり遂げるべきだという観念があったように思う。一方で、カナダのラボでは試薬や物品の共有が非常に進んでおり、違うラボ同士でも助け合いながら実験を進めていくことが多い。また、個々人の得意なスキルをお互いに教えあうことで効率的に研究を進めているように思える。その根本にはやはりコミュニケーションスキルの重要性があり、研究を進めていく上でも英語でのコミュニケーションの重要性を感じた。今後益々国際的な共同研究が重要になっていくこの時代に、英語でのコミュニケーション力が低いことは、致命的な弱点になりうると思う。

採用者は幸いこの滞在のあとも引き続き同じラボで研究を続けられるが、大きな成果を出すために数ヶ月でも早く海外での研究を体験することができた点で、本プログラムに採用された意義は非常に大きかったように思う。