

Die Auswirkungen von Ernährung auf die Einlagerung von ektopen Fettzellen im Knochengewebe

Marina Leer¹, George Soultoukis¹, Tim J. Schulz^{1,2}

¹ Department of Adipocyte Development and Nutrition (ADE), German Institute of Human Nutrition (DIfE), Potsdam-Rehbrücke
² Deutsches Zentrum für Diabetesforschung (DZD), München-Neuherberg, Bayern, Deutschland

Hintergrund

Mesenchymale Zellen des Knochenmarkstromas spielen aufgrund ihres spezifischen Differenzierungspotentials und ihrer Fähigkeit, die Hämatopoese zu unterstützen, eine wichtige Rolle bei der Homöostase des Knochengewebes. In Bezug zur Bildung von neuem Knochengewebe differenzieren diese Zellen entweder in osteochondrogene Vorläuferzellen und bilden Osteozyten und Chondrozyten oder sie differenzieren in adipogene Vorläuferzellen, die letztlich Adipozyten ausbilden. Unter pathologischen Bedingungen, wie beispielsweise beim Altern oder bei Adipositas, kommt es zu einer übermäßigen Differenzierung von Fettzellen im Knochenmark. Aufgrund von parakrinen und endokrinen Wechselwirkungen des ektopischen Fetts werden vermehrt bestimmte Adipokine ausgeschüttet, die die Regenerationsprozesse des Knochens beeinträchtigen.

Methoden

Bioinformatische Ansätze zur Analyse Zelltyp-spezifischer Transkriptom durch Einzelzell-RNA-Sequenzierung

1. Prä-Prozessierung

Qualitätskontrolle:

- Sequenzierungsgenauigkeit
- Adapter-Trimming

Alignment gegen Referenz-Genom

Qualitätskontrolle:

- Alignment-Präzision
- Gene body coverage

2. Datenfilterung

Zellspezifische Qualitätskontrolle:

- Verteilung Bibliotheksgrößen
- Anteil mitochondrialer Gene

Normalisierung

- Genlänge
- Bibliothekstiefe

Korrektur von Störfaktoren:

- Technische Variation
- Zellzyklusphasen

3. Biologische Analysen

Differentielle Genexpression Transkriptom-Signaturen

Clusteranalyse: Zelltyp-Bestimmung

Lineage commitment: pseudo-temporale Trajektorien

Ausgewählte Ergebnisse

I. Hauptkomponentenanalyse und differentielle Genexpressionsanalyse

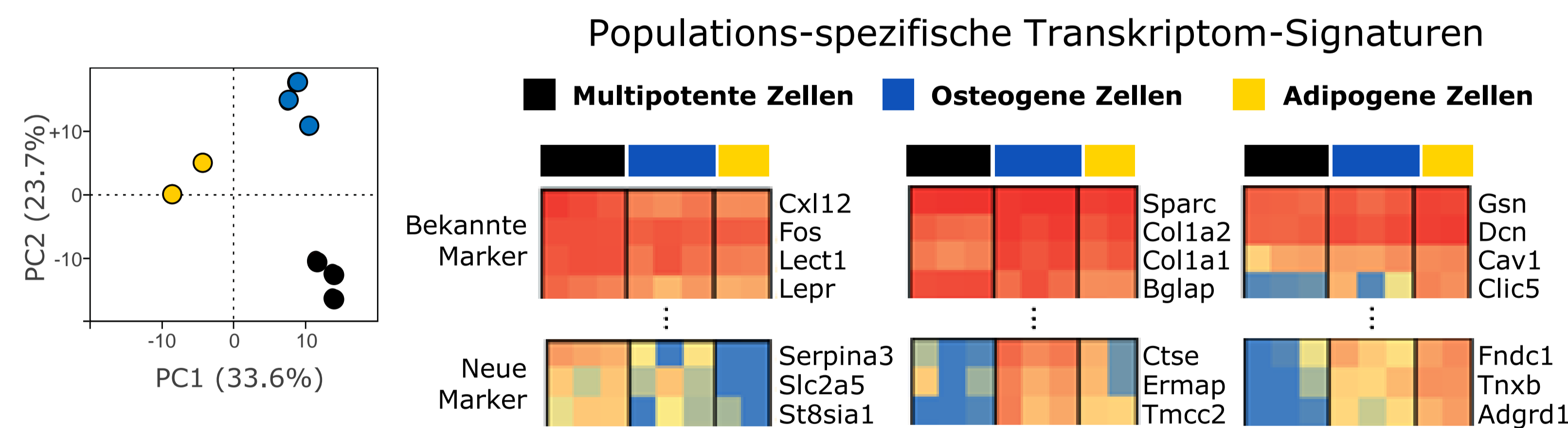


Abbildung 2: In zuvor veröffentlichten Sequenzierungsanalysen von definierten Zellpopulationen wurden Transkriptom-Signaturen aus bereits bekannten und neuen Genen identifiziert, die in multipotenten Stammzellen (50 Gene), oder osteogenen Vorläuferzellen (66 Gene), oder adipogenen Vorläuferzellen (62 Gene) differentiell exprimiert sind.

modifiziert aus: Ambrosi TH, ..., Schulz TJ. Adipocyte Accumulation in the Bone Marrow during Obesity and Aging Impairs Stem Cell-Based Hematopoietic and Bone Regeneration. Cell Stem Cell 2017; 20 : 771-784.

II. Alterungsbedingte Abnahme osteogener Vorläuferzellen

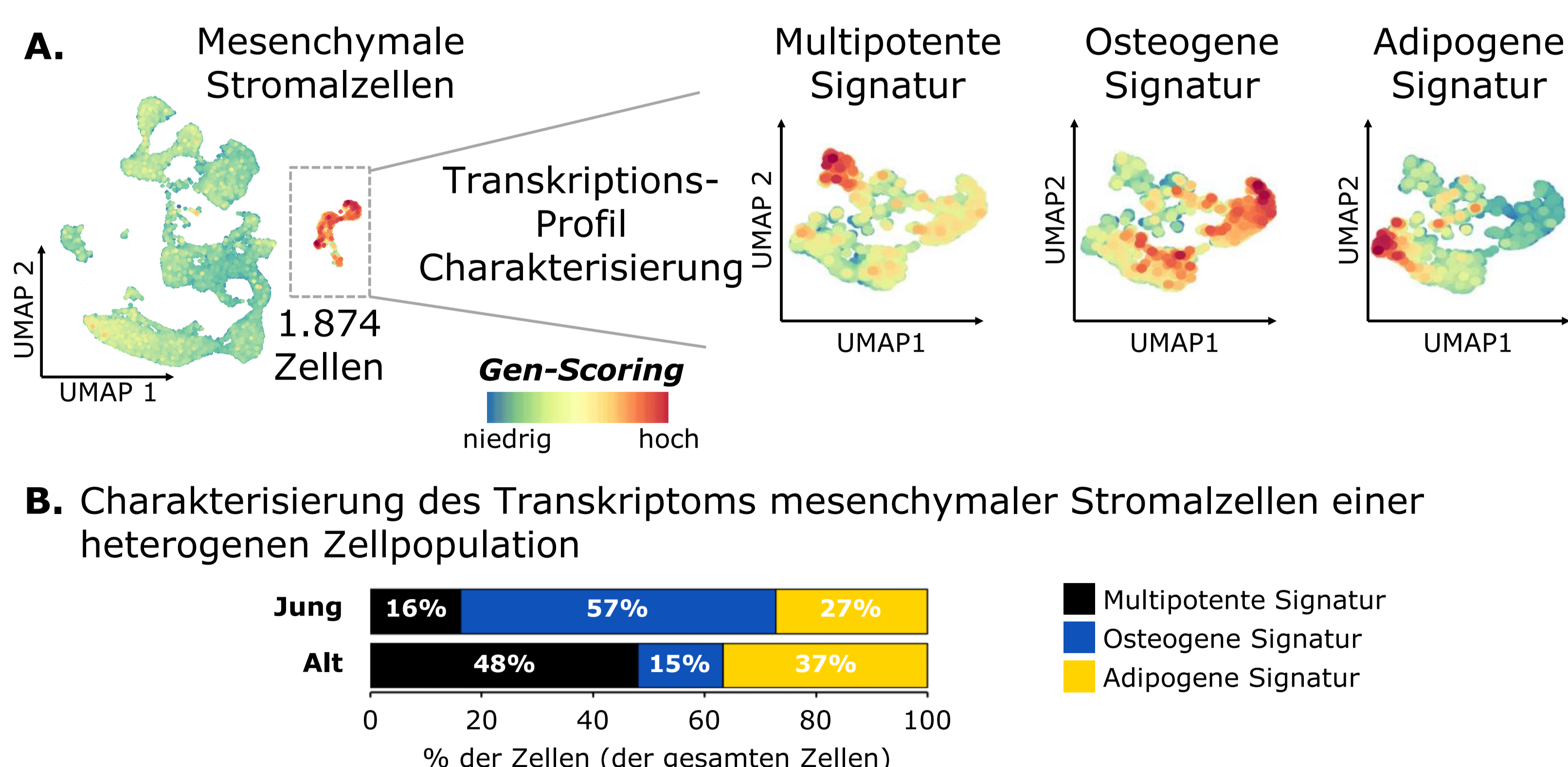


Abbildung 3: Repräsentation des Transkriptoms einer heterogenen mesenchymalen Stromalzellenpopulation unter 2 Konditionen (jung, alt) als UMAP-Diagramm (*uniform manifold approximation and projection*). **A.** Das Gen-Scoring mit den Transkriptom-Signaturen definierter Zelltypen aus (I) identifiziert multipotente, osteogene, adipogene Signaturen. **B.** Die Charakterisierung der Zelltypen zeigt eine Abnahme der osteogenen Vorläuferzellpopulation mit Veränderung der Transkriptomsignatur.

Zusammenfassung

- Einzelzellanalyse einer heterogenen Stromalzellenpopulation zeigt eine altersabhängige Abnahme osteogener Vorläuferzellpopulation
- Einzelzellanalyse multipotenter stromaler Zellen zeigt eine altersabhängige proadipogene Transkriptionsverschiebung

Ziel

Verständnis der molekularen Mechanismen der Stammzellendifferenzierung in Abhängigkeit von Alterungsprozessen und Ernährung gewinnen

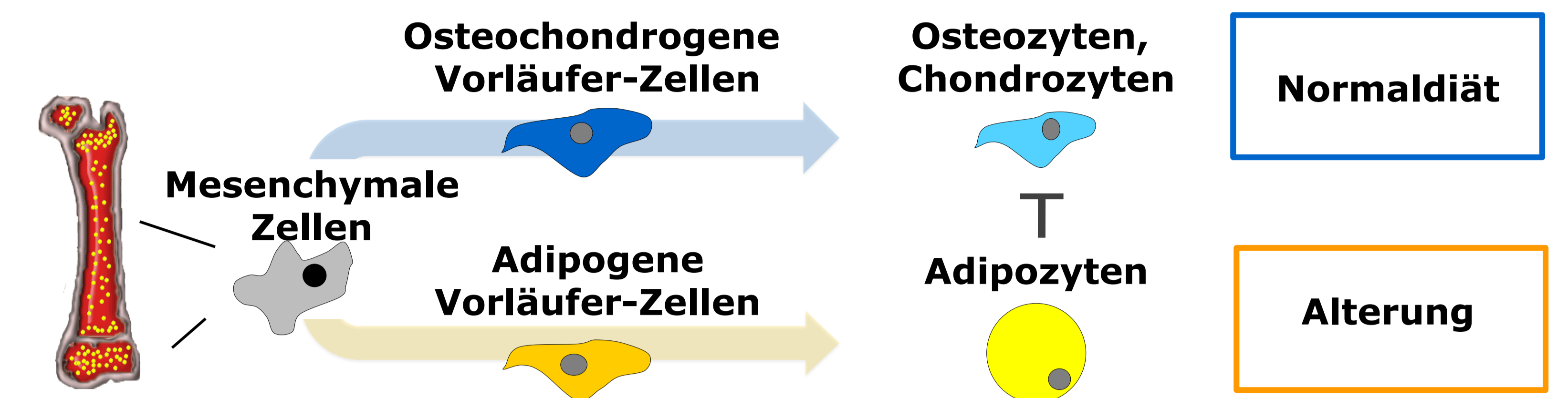


Abbildung 1: In jungen Mäusen auf Normaldiät formen mesenchymale Stammzellen Osteozyten. Bei gealterten Mäusen bilden sich vermehrt Adipozyten im Knochen.

III. Altersabhängige proadipogene Transkriptionsverschiebung multipotenter Vorläuferzellen

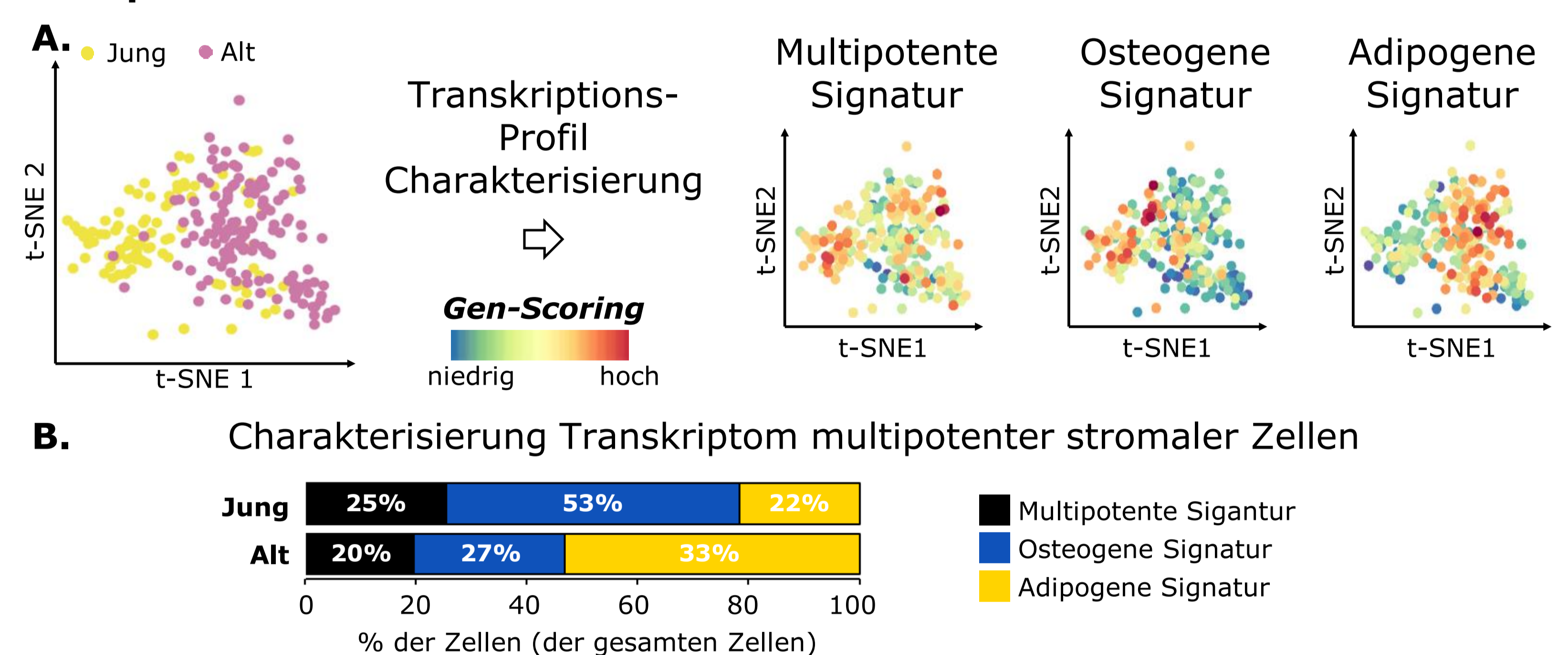
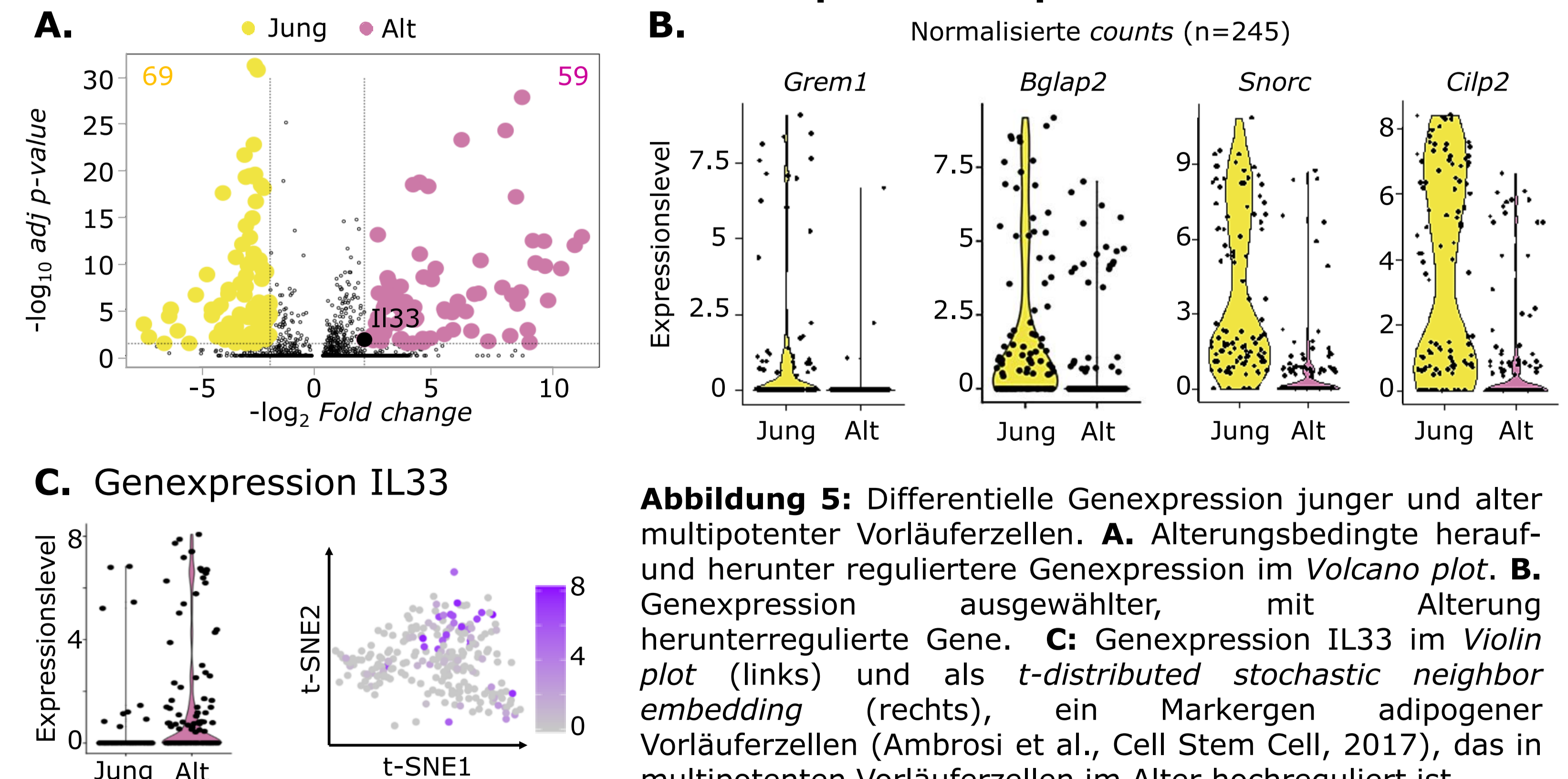


Abbildung 4: **A.** Einzell-Transkriptom und Gen-Scoring junger (gelb) und alter (pink) multipotenter stromaler Zellen (MSCs) als t-SNE-Diagramm (*t-distributed stochastic neighbor embedding*), entspricht mathematischer Dimensionsreduktion eines komplexen Datensatzes. **B.** Quantifizierung des Gen-Scorings mit Transkriptom-Signaturen definierter Zelltypen aus (I) zeigt in verschiedenen Subpopulationen der MSCs eine Annäherung an Transkriptomprofile der osteogenen oder adipogenen Zellpopulationen.

IV. Effekte des Alterns auf das Transkriptom multipotenter Vorläuferzellen



Ausblick

- Pseudotemporale *Trajectory*-Analyse: *in silico* Rekonstruktion der zellulären Spezialisierung unter Einfluss von Ernährung und Alterung.
- Epigenetische Analyse: Genregulationsmechanismen während der Knochenregeneration in Abhängigkeit von Alter und Ernährung.