

細胞老化抑制を目指したミトファジー誘導ナノキャリアの開発

東京都立大学大学院都市環境科学研究科環境応用化学域

竹間 恒佑, 有間 晃平, 佐藤 潔, 川上 浩良

Kousuke CHIKUMA, Kohei ARIMA, Kiyoshi SATO, Hiroyoshi KAWAKAMI

1. 目的

幹細胞の老化現象(ステムセルエイジング)は、幹細胞を利用した再生医療に不可欠な体外培養時において、幹細胞機能(自己複製能や多分化能)を維持した状態で増殖する上で大きな障壁となっている。その解決には「体外培養時の継代老化を抑制する手法」の開発が必要である。我々は「細胞老化の進行とミトコンドリアの機能不全やミトファジーの不活性化との相関」に着目し、細胞老化抑制を目指したミトファジー誘導ナノキャリアを提案する。本研究では、幹細胞の代わりにヒト由来正常線維芽細胞(WI-38細胞)を用いて老化モデル細胞を作製し、その作用機構を検討した結果について報告する。

2. 方法

老化モデル細胞は、WI-38細胞に対して過酸化水素を処理することで作製された。ミトファジー誘導ナノキャリアは、リボソーム内にsuperoxide dismutase (SOD)活性を有するマンガン(Mn)ポルフィリンとp53阻害剤を封入することで調製された。ナノキャリアによる細胞老化抑制効果およびミトファジー誘導機構の検討は、老化モデル細胞に対してナノキャリアを添加し、72時間培養した後の細胞を用いて評価した。細胞老化抑制効果は、老化関連タンパク質であるp53やp21の発現および細胞周期解析、interleukin (IL)-8分泌量により確認された。ミトファジー誘導機構はミトコンドリア膜電位および、オートファゴソームタンパク質であるLC-3の発現により検討された。

3. 結果・考察

1) 細胞老化抑制効果の検討

老化モデル細胞では正常細胞と比較して、老化関連タンパク質であるp53やp21の発現増加および、G2/M期細胞割合の増加から過酸化水素による細胞老化の誘導が確認された。一方、ナノキャリアを添加した細胞では、サンプル未処理の老化モデル細胞と比較して、老化関連タンパク質の発現および細胞老化関連分泌形質(SASP)因子の一つであるIL-8の分泌量が減少した。これらの結果は、ナノキャリアによって、細胞老化の進行が抑制されたことを示している。

2) ミトファジー誘導機構の検証

老化モデル細胞におけるミトコンドリア膜電位は、サンプル未処理の老化モデル細胞と比較して減少した。ミトコンドリア膜電位の低下は、ナノキャリアによるミトファジーの誘導を示している。また、ナノキャリアを添加した細胞では、サンプル未処理の老化モデル細胞と比較して、オートファジー関連タンパク質の発現が増加した。この結果は、ナノキャリアが老化モデル細胞におけるp53の発現を阻害することで、ミトファジーを再活性化させたことを示唆している。

4. まとめ・独創性

本研究で、我々は新規細胞老化抑制アプローチとして、SOD活性を有するMnポルフィリンとp53阻害剤を共送達させるミトファジー誘導ナノキャリアを提案した。今回の結果より、ナノキャリアによる細胞老化の進行抑制が確認された。これらの結果は、このミトファジー誘導ナノキャリアが幹細胞の機能維持に向けた新規アプローチとして期待されることを示している。

■ 著者連絡先

東京都立大学大学院都市環境科学研究科環境応用化学域
(〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1)
E-mail. chikuma-kousuke@ed.tmu.ac.jp

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。