

老化間葉系幹細胞の機能回復を目指したマイトファジー誘導ナノキャリア

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

美野 晃輝, 芦葉 恵介, 佐藤 潔, 川上 浩良

Koki MINO, Keisuke ASHIBA, Kiyoshi SATO, Hiroyoshi KAWAKAMI

1. 目的

ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞 (human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, hAT-MSCs) は、再生医療や細胞治療における有望な細胞源として注目されている。hAT-MSCsを治療へ応用するには、ドナーから得た細胞を治療に必要な細胞数まで培養する必要があるが、一定回数以上の継代以降は老化関連因子の発現により細胞品質の低下が問題となっており、治療に有効な品質のhAT-MSCsの供給には、継代培養中の細胞老化の抑制が課題である。我々は、細胞老化の主な原因として、ミトコンドリア品質管理機構の機能低下に着目し、長期継代培養したhAT-MSCsにマイトファジーを誘導するナノキャリアを開発し、細胞老化の抑制や老化細胞の若返りに成功した。

2. 方法

複製老化したhAT-MSCsは継代培養で作製し、細胞増殖の停止やp21, senescence-associated beta-galactosidase (SA- β -gal) 陽性率の増加から細胞老化を確認した。ナノキャリアは、リポソーム内にsuperoxide dismutase (SOD) 活性を有するマンガンポリフィン (MnP) 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マイトファジー誘導、細胞機能回復効果、細胞老化抑制効果は、老化hAT-MSCsにナノキャリアを一定時間処理後の細胞を用いて評価した。マイトファジー誘導機構の検証については、細胞内過酸化水素産生量、ミトコンドリア膜電位、マイトファジー関連タンパク質の発現により確認された。細胞機能回復効果および細胞老化抑制効果は、adenosine triphosphate (ATP) 産生量、interleukin (IL)-8, SA- β -gal陽性率により確認された。

■ 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. mino-koki@ed.tmu.ac.jp

3. 結果・考察

1) マイトファジー誘導機構の検証

老化hAT-MSCsでは、ナノキャリア処理により、細胞内過酸化水素量とミトコンドリア膜電位の有意な増加と低下が観測され、MnPのSODミミックな触媒機能の効果が発現されたことが示唆された。さらに、そのhAT-MSCsでは、ナノキャリア添加濃度依存的なp53発現の低下とParkin発現の増加、さらにLC3の不活性型から活性型への変化が認められ、ナノキャリア処理が老化hAT-MSCsに対してマイトファジーの再活性化を強く促すことが明らかとなった。

2) 細胞機能回復効果、細胞老化抑制効果の検討

ナノキャリア処理した細胞では、ATP産生量が有意に増加した。この結果は、不良ミトコンドリアが除去され、ミトコンドリアの機能回復が生じたことを示唆している。さらに、ナノキャリア処理した細胞では、細胞増殖能の回復に加えsenescence-associated secretory phenotype (SASP) 因子の1つであるIL-8産生量やSA- β -gal陽性率が低下した。これらの結果より、ナノキャリアは最終的に細胞老化状態からの回復を促すことが示された。

4. まとめ・独創性

本研究では、ナノキャリアが老化hAT-MSCsに対しマイトファジーの再活性化を誘導し、細胞老化を抑制することを明らかにした。今回の結果より、ナノキャリアは最終的に細胞老化状態からの回復に有効であることが示された。本研究で得られたこれらの成果は、間葉系幹細胞を使った再生医療、細胞治療の普及に大きく貢献することが期待される。

謝辞

hAT-MSCsは株式会社日本バイオセラピー研究所から譲渡された。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。