

培養皮膚細胞を用いた老化モデル構築のための研究

岡山理科大学 工学部 バイオ・応用化学科 井和丸 愛美、石原 歩、秋山 覚博、柳 大樹、
吉本 聖、吉田 萌生 (安藤研究室)

Keywords: ミトコンドリア、老化、活性酸素種

1. 背景及び目的

ミトコンドリアはATPを生産する過程で活性酸素種(ROS:Reactive Oxygen Species)を発生する。このROSによって傷ついた細胞は機能が低下し、老化につながると考えられている。本研究の目的は、ROSの過酸化水素(H₂O₂)を線維芽細胞(FB)に投与することにより、短時間でROS依存性老化モデルを確立することである。

2. 方法

培養ヒト正常線維芽細胞を用い、老化細胞の特徴である自家蛍光を観察した。また、蛍光染色※1及び免疫染色※2を行った。

①短期培養(young)、長期培養(aged)

②短期培養(young)、短期培養でH₂O₂ 250μMを7~10日間処理(H₂O₂誘導老化モデル)

※1 Lysotracker…リソソーム染色試薬

Dihydrorhodamin123…ROS染色試薬

※2 MnSOD…ミトコンドリアに局在する抗酸化酵素

3. 結果

“aged”と同様に“H₂O₂誘導老化モデル”も自家蛍光物質が増加した(Fig. 1)。

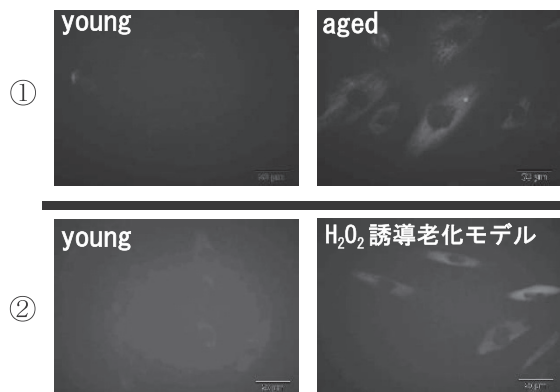


Fig. 1. 自家蛍光の比較

“aged”と同様に“H₂O₂誘導老化モデル”もリソソームが増加した(Fig. 2)。

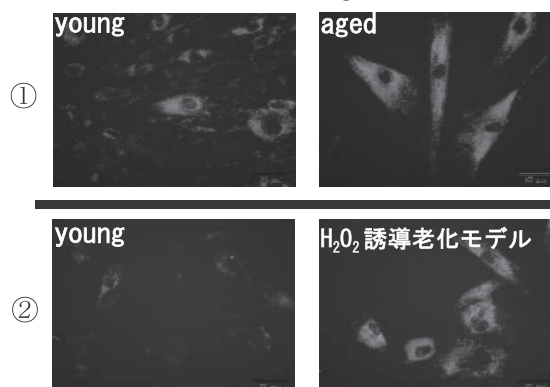


Fig. 2. リソソームの蛍光染色の比較

なお、Dihydrorhodamin123及びMnSODも、“H₂O₂誘導老化モデル”で“aged”と同様に増加した(データ省略)。

4. 結語

H₂O₂ 250μMを7~10日間処理することにより、長期培養と同様な特徴を示す細胞が得られた。

今後は、老化細胞のミトコンドリア機能を解析するため、酸素消費量、ATP産生量、Lysosome活性等を測定し、より精度の高いROS依存性老化モデルの確立を目指す。

5. 応用の可能性

老化モデルがコンスタントに得られる実験条件を確立することで、未だ解明されていない真皮新陳代謝のメカニズム解析や、老化した細胞が周囲の細胞に与える障害作用の研究に役立てたい。

連絡先: 安藤 秀哉 TEL:086-256-9726, FAX:086-256-9726, E-mail:ando@dac.ous.ac.jp