

2020年7月26日

日本音声言語医学会

理事長 香取 幸夫 殿

会員番号 2584

申請者氏名 佐藤 公則

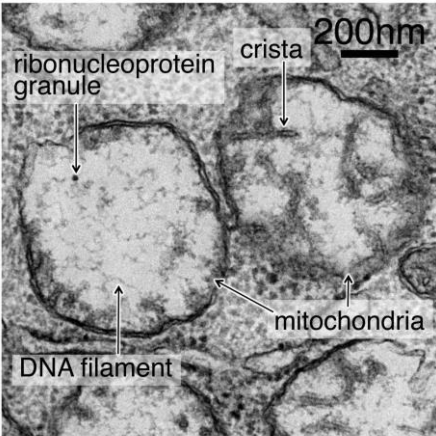
助成研究実績報告書

2019年7月1日付で助成金交付決定を受けた研究が完了したので、次のとおりその実績を報告します。

記

- 1 研究課題名 ヒト声帯黄斑内細胞のエネルギー代謝
- 2 交付決定助成金額 500,000 円
- 3 添付書類
 - (1) 助成研究実績報告書(付表1)
 - (2) 助成研究収支計算書(付表2)
 - (3) その他参考資料

助成研究実績報告

申請者	佐藤 公 則
研究実施期間	2019年7月1日～2020年6月30日
研究課題名	ヒト声帯黄斑内細胞のエネルギー代謝
目 的	<p>我々のこれまでの研究から、ヒト声帯黄斑内には組織幹細胞が存在し、細胞が密に分布する声帯黄斑は幹細胞ニッチであることが示唆されている。</p> <p>本研究の目的は、ヒト声帯黄斑内に分布する組織幹細胞と考えられている細胞のエネルギー代謝を解明することである。</p> <p>ヒト声帯黄斑内に分布する組織幹細胞と考えられている細胞のエネルギー代謝が解明されれば、細胞の代謝プログラムを人為的に制御することにより、幹細胞機能の調節、組織幹細胞の新しい改変法、幹細胞の老化いわゆるstem cell ageing の抑制による抗老化法の開発につながると考えられる。</p>
方 法	<p>1. ヒト声帯黄斑内の細胞の細胞小器官、特にミトコンドリアの微細構造 ヒト声帯黄斑内の細胞のエネルギー代謝を司るミトコンドリアの微細構造を透過型電子顕微鏡で検討した。</p> <p>2. ヒト声帯黄斑内の細胞の細胞小器官、特にミトコンドリアと他の細胞小器官との関係 ヒト声帯黄斑内の細胞のエネルギー代謝を司るミトコンドリアと他の細胞小器官（粗面小胞体、脂肪滴など）との関連性を透過型電子顕微鏡で検討した。</p> <p>3. ヒト声帯黄斑内の細胞の解糖系関連タンパク質の同定 ヒト声帯黄斑内の細胞に解糖系関連のタンパク質が発現しているかを免疫組織化学で検討した。</p>
結 果	<p>1. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリアの微細構造 ヒト声帯黄斑内の細胞の細胞質にミトコンドリアが分布していた。ミトコンドリアは類円形で、直径は 579 ± 109nm であった。ミトコンドリアは外膜と内膜に囲まれ、intercrystal space は基質で占められていた。基質は均質無構造又は細顆粒状であり、DNA 細糸、リボヌクレオタンパク質 顆粒を認めた。ミト</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">図1.</p> <p style="text-align: center;">図1. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリア（透過型電子顕微鏡像）</p>

ミトコンドリアのクリスタは少なく、内膜の辺縁に認める。コンドリアのクリスタは少なく、内膜の辺縁に認めた (図 1)。これらのことからヒト声帯黄斑内の細胞は、エネルギー代謝 (酸化リン酸化) 活性が低いことが示唆された。ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリアが、融合あるいは分裂していた (図 2)。

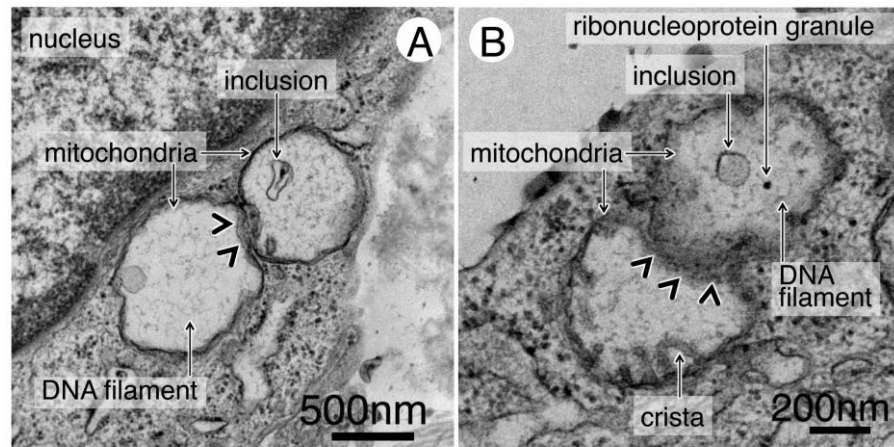


図2.

図2. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリア (透過型電子顕微鏡像) 2つのミトコンドリアが融合あるいは1つのミトコンドリアが分裂している。ミトコンドリアが接している部位では、ミトコンドリアの外膜と内膜が消失している。

2. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリアと他の細胞小器官との関係

1) 脂肪滴との関係

ヒト声帯黄斑内細胞の細胞質に存在する脂肪滴を取り囲み、脂肪滴と融合しているミトコンドリアを認めた (図 3)。ミトコンドリアで β -酸化される脂肪酸を、脂肪滴が供給していることが示唆された。またミトコンドリアの外膜には脂質代謝に關与する酵素が存在するが、ミトコンドリアが、トリグリセリドの代謝

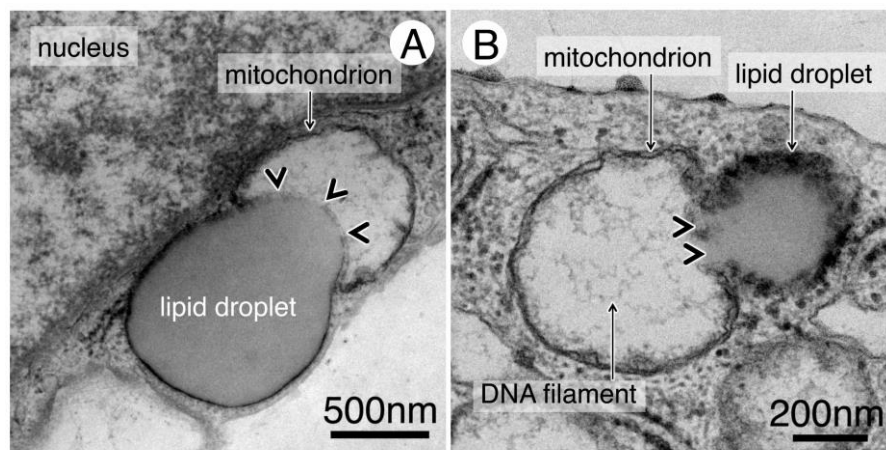


図3.

図3. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリアと脂肪滴 (透過型電子

顕微鏡像)

ミトコンドリアが細胞質の脂肪滴を取り囲んでいる。ミトコンドリアと脂肪滴が接している部位では、ミトコンドリアの外膜と内膜が消失し(矢印)、ミトコンドリアと脂肪滴が融合している。

に使用される脂肪酸オキシダーゼを供給していることが示唆された。

これらのことから、ミトコンドリアが脂質代謝に関与していることが示唆され、ヒト声帯黄斑内の細胞は、そのエネルギー代謝を β -酸化に転換していることが示唆された。

2) 粗面小胞体との関係

ヒト声帯黄斑内細胞の細胞質に存在する粗面小胞体がミトコンドリアを取り囲み、ミトコンドリアと融合していた(図4)。粗面小胞体は嚢状構造(cisterna)をとり、リボソームで合成されたタンパク質を濃縮・貯蔵していることが示唆された。

これらのことからミトコンドリアが粗面小胞体にエネルギーを供給していることが示唆された。

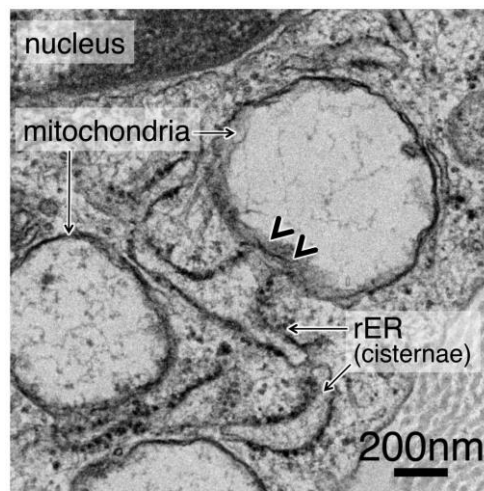


図4.

図4. ヒト声帯黄斑内の細胞のミトコンドリアと粗面小胞体(透過型電子顕微鏡像)粗面小胞体(rER)がミトコンドリアを取り囲み、ミトコンドリアと融合している(矢印)。粗面小胞体は嚢状構造(cisterna)をとっている。

3. ヒト声帯黄斑内の細胞の解糖系関連タンパク質

免疫組織化学で、ヒト声帯黄斑内の細胞は glucose transporter (GLUT1) を発現していた。

解糖系の最初のステップは、細胞内に glucose を取り込むことである。そのためには細胞表面上に存在する glucose transporter を介する。ヒト声帯黄斑内の細胞表面上には、 glucose transporter が存在していた。

免疫組織化学で、ヒト声帯黄斑内の細胞は glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を発現していた。

GAPDH は糖代謝及び細胞のエネルギー産生において最も重要な酵素の一つで、解糖系はこのステップで初めてエネルギーを産生したことになる。ヒト声帯黄斑内の細胞では、解糖系によるエネルギー代謝が行われていることが示唆された。

	<p>このようにヒト声帯黄斑内の細胞には、解糖系関連タンパク質が発現していた。</p>
倫理的配慮	<p>人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき研究を行った。</p>
考 察	<p>活性酸素種による細胞傷害（DNA 傷害）の蓄積は、幹細胞の自己複製能を傷害し、幹細胞の老化を促進する。したがって幹細胞はミトコンドリアにおける酸化リン酸化による酸素の消費を抑制し、その未分化性を維持する代謝プログラムを持っている。</p> <p>本研究により、ヒト声帯黄斑内の細胞ではミトコンドリア呼吸（酸化リン酸化）が抑制され、解糖系による糖質代謝、β酸化による脂質代謝などのエネルギー代謝が行われていることが示唆された。</p> <p>解糖系によるエネルギー代謝は活性酸素種の産生が少なく、活性酸素種による細胞傷害（DNA 損傷）を最小限にすることから、ヒト声帯黄斑内の細胞では、その未分化性・幹細胞性を維持する代謝プログラムが行われていることが示唆された。</p>
添付資料	<p>ありません。</p>