



チリメンアオジソのアミロイド凝集阻害活性を向上させる栽培条件の探索と細胞毒性に対する保護効果

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2024-05-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 島森 圭弥 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.15118/0002000220

氏名	島森 圭弥
学位論文題目	チリメンアオジソのアミロイド凝集阻害活性を向上させる栽培条件の探索と細胞毒性に対する保護効果
論文審査委員	主査 教授 徳楽 清孝 教授 長谷川 靖 准教授 上井 幸司

論文内容の要旨

プロテインパチーは、凝集性タンパク質が細胞内外で凝集し生体内に沈着する病態である。とりわけ、プロテインパチーの一種であるアルツハイマー病 (AD) は世界中で患者数が著増しており、今後もさらなる増加が見込まれる。脳内に amyloid- β ($A\beta$) 凝集体が蓄積することが AD の主な発症原因と考えられており、認知機能低下が現れる 20 年前から蓄積が始まる。そこで本研究では、発症以前の日常的なタンパク質凝集阻害活性物質の摂取により、AD を含むプロテインパチーを予防するアプローチに着目した。我々の研究室は以前、量子ドットを活用した $A\beta$ 凝集阻害活性評価法である、微量ハイスループットスクリーニング (MSHTS) 法を開発し、チリメンアオジソ葉抽出物が高い $A\beta$ 凝集阻害活性を有することを明らかにした。

本研究では、まずチリメンアオジソの $A\beta$ 凝集阻害活性を向上させる栽培方法および収穫時期の解明を試みた。北海道内の各圃場において異なる土壌条件でチリメンアオジソを栽培し、それら抽出物の $A\beta$ 凝集阻害活性を自動化 MSHTS 法により評価した。その結果、開花直前のチリメンアオジソの抽出物が最も高い活性を示し、また栽培条件においては風の付与、適切な窒素の施肥、収穫直前における水やりの停止が活性を向上させた。そのため、これら 4 つのファクターが高い活性を有する抽出物の作成に重要であることを示した。次に、得られた高活性抽出物が $A\beta$ により誘導される各種細胞への影響を抑制するか評価した。まず神経モデル細胞である PC12 細胞を神経成長因子により 48 h 処理し、突起長を計測したところ、 $A\beta$ により誘導される突起伸長を抽出物が抑制した。また、抽出物はヒト脳微小血管内皮細胞の $A\beta$ 処理により誘導される細胞死を有意に抑制した。さらに、MSHTS 法を $A\beta$ 以外の凝集性タンパク質にも適用し本抽出物を評価したところ、tau、 α -synuclein、amylin、serum amyloid A の凝集に対しても阻害活性を示した。

以上より、本研究はチリメンアオジソの $A\beta$ 凝集阻害活性を向上させる栽培条件を提示し、得られた高活性抽出物が持つ $A\beta$ による各種細胞毒性に対する保護効果を裏付けた。さらに、抽出物は $A\beta$ だけでなく複数のタンパク質に対し凝集阻害活性を示し、全身を対象としたプロテインパチーの予防に貢献する可能性を示した。本研究のアプローチは他の食用植物に応用可能であり、日常の食事により AD を含むプロテインパチーを予防する戦略に寄与する。

A B S T R A C T

Proteinopathy is a pathology in which proteins aggregate inside and outside of cells, and these are deposited in the body. In particular, patients with Alzheimer's disease (AD), a type of proteinopathy, have been increasing significantly worldwide, a trend that is expected to continue in the future. The main pathogenesis of AD is the accumulation of amyloid- β (A β) aggregates in the brain, a process that begins about 20 years before the onset of cognitive decline. This study focused on a strategy to prevent proteinopathies, including AD, by daily intake of substances with protein aggregation inhibitory activity, prior to the onset of AD. Previously, our laboratory developed a method to evaluate A β aggregation inhibitory activity using quantum dots, a microliter-scale high-throughput screening (MSHTS) system, and found that *Perilla frutescens* var. *crispa* leaf extract had high activity.

I initially attempted to assess the optimal harvesting time and cultivation conditions to enhance the A β aggregation inhibitory activity of *Perilla*. *P. frutescens* var. *crispa* plants were cultivated in different fields around Hokkaido, Japan, and the automated MSHTS method was used to evaluate the A β aggregation inhibitory activity of their EtOH extracts. The results show that the activity was highest just before flowering and enhanced by wind, appropriate nitrogen fertilization, and drying soil. These factors effectively increase A β aggregation inhibitory activity. Next, to evaluate whether the extract cancels the effect induced by A β on cells, the neurite length of PC12 cells, a neural model cell, was measured after 48 h of treatment with nerve growth factor. The results showed that the extract suppressed A β -induced elongation of neurites. The extract also significantly suppressed A β -induced cell death of human brain microvascular endothelial cells. Furthermore, when the MSHTS system was applied to aggregation proteins other than A β , the extract inhibited the aggregation of tau, α -synuclein, amylin, and serum amyloid A.

This study provided a set of cultivation conditions that enhanced the A β aggregation inhibitory activity of *P. frutescens* var. *crispa* and demonstrated that the obtained highly active extract protects various cells from A β toxicity. Furthermore, the extract displayed aggregation inhibitory activity not only for A β but also for several proteins, indicating its potential to contribute to the prevention of systemic proteinopathies. An approach similar to that employed in this study can be applied to any edible plant and holds promise as a strategy to prevent proteinopathies, including AD, by daily diet.

論文審査結果の要旨

近年、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患のほか、糖尿病やリウマチなど、様々な加齢性疾患に変性タンパク質の凝集が関与していることが明らかになり、これらを総称としてプロテイノパチーと呼ぶ。本論文では、世界中で患者数が著増しており、今後もさらなる増加が見込まれるプロテイノパチーの一種、アルツハイマー病（AD）について論じたものである。ADでは、脳内にamyloid- β （A β ）凝集体が蓄積することが発症の引き金になると考えられており、認知機能低下が現れる20年前から蓄積が始まる。本論文では、特に発症前の日常的なタンパク質凝集阻害活性物質の摂取により、ADを含むプロテイノパチーを予防するアプローチに焦点を合わせ、研究を推進した。

第一章では、チリメンアオジソのA β 凝集阻害活性を向上させる栽培方法および収穫時期の解明を試みた。北海道内の各圃場において異なる土壌条件でチリメンアオジソを栽培し、それら抽出物のA β 凝集阻害活性を自動化MSHTS法により評価した。その結果、開花直前のチリメンアオジソの抽出物が最も高い活性を示し、また栽培条件においては風の付与、適切な窒素の施肥、収穫直前における水やりの停止が活性を向上させることを示した。

第二章では、得られた高活性抽出物がA β により誘導される各種細胞への影響を抑制するか評価した。まず神経モデル細胞であるPC12細胞を神経成長因子により48h処理し、突起長を計測したところ、A β により誘導される突起伸長を抽出物が抑制した。また、抽出物はヒト脳微小血管内皮細胞のA β 処理により誘導される細胞死を有意に抑制した。

第三章では、MSHTS法をA β 以外の凝集性タンパク質にも適用し本抽出物を評価したところ、tau、 α -synuclein、amylin、serum amyloid Aの凝集に対しても阻害活性を示した。

以上、本論文ではチリメンアオジソのA β 凝集阻害活性を向上させる栽培条件を提示し、得られた高活性抽出物が持つA β による各種細胞毒性に対する保護効果を裏付けた。さらに、抽出物はA β だけでなく複数のタンパク質に対し凝集阻害活性を示し、全身を対象としたプロテイノパチーの予防に貢献する可能性を示した。本研究のアプローチは他の食用植物に応用可能であり、日常の食事によりADを含むプロテイノパチーを予防する戦略に寄与する。

これらの研究成果は1報の1st論文及び1報の共著論文（いずれもJCR掲載誌）、また世界最大の神経科学に関する国際会議Neuroscience 2022にて発表されており、博士の学位論文として十分な水準にあると認められる。