

大豆成分による神経変性疾患の予防効果

山梨大学大学院医学工学総合研究部
環境遺伝医学講座
長井 薫

概要

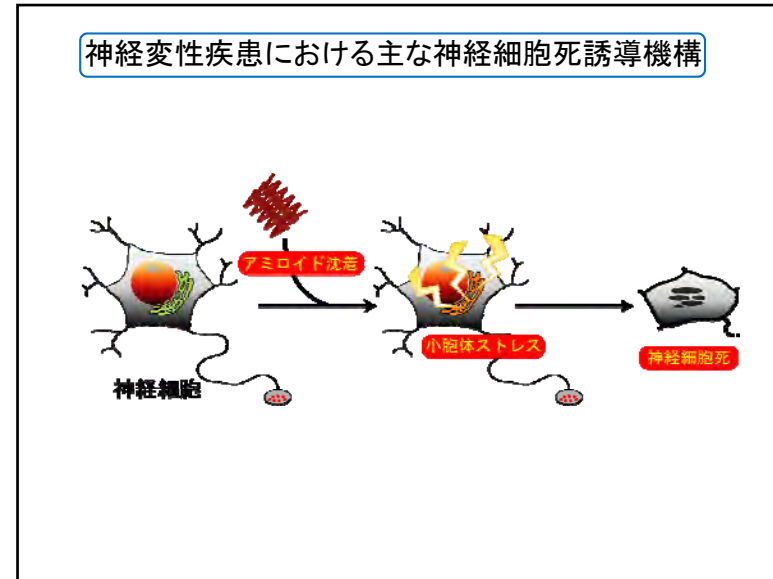
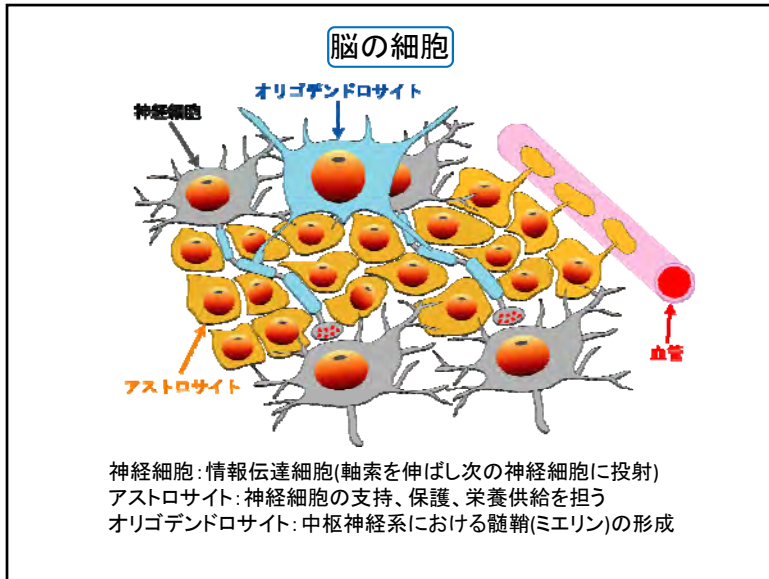
大豆に含まれる成分による脳神経系の疾患の予防・治療の可能性

1. 神経変性疾患について
2. リン脂質による神経保護効果について
3. 糖タンパク質糖鎖由来オリゴ糖による神経保護効果について
4. マメ科由来レクチンによる神経再生促進の可能性について

1. 神経変性疾患について

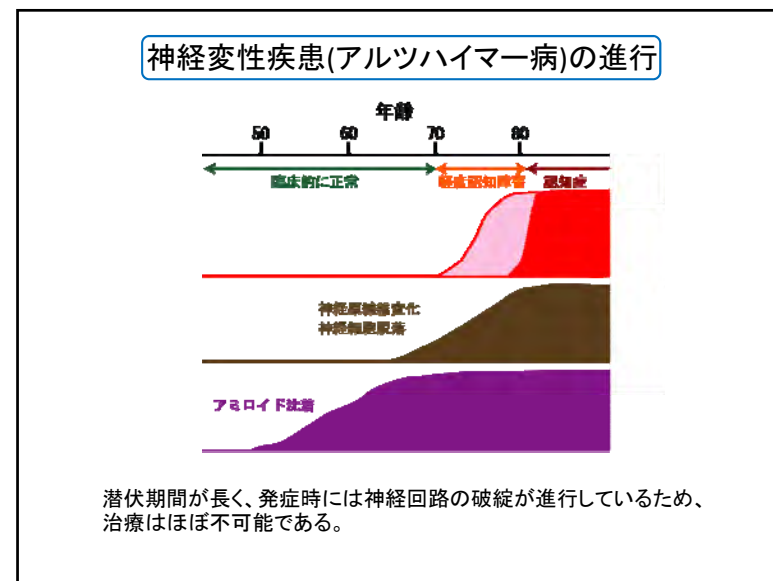
神経変性疾患とは

神経変性疾患とは、脳内の神経細胞が何らかの理由により脱落することで認知症や運動失調などの症状を呈する疾患のこと。アルツハイマー病やパーキンソン病、クロイツフェルト-ヤコブ病などが含まれる。



主な神経変性疾患におけるアミロイド化タンパク質

アルツハイマー病	アミロイド-β
パーキンソン病	α-シヌクレイン
クロイツフェルトヤコブ病	プリオンタンパク質
ハンチントン病	ハンチンチン



2. リン脂質による神経保護効果について

大豆リン脂質の効果に関するこれまでの報告

大豆レシチンから合成されたホスファチジルセリンに、加齢による認知機能の低下を改善する作用がある。
(J. Nutr., 2001, Food Style, 2002)

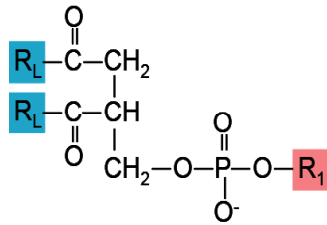


しかし、作用機序等は明らかにされていない。



小胞体ストレスからの神経細胞保護効果の観点から検討を行った。

用いたリン脂質の構造



Phospholipids used in this study

acyl groups

R_L { L: linolic acid (18:2)
O: oleic acid (18:1)
P: palmitic acid (16:0)

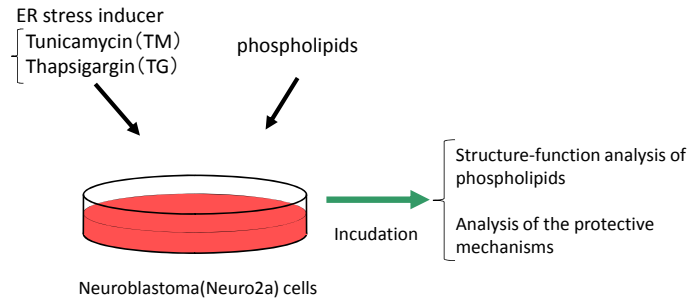
phosphoester groups

R_1 { E: ethanolamine
S: serine
C: choline

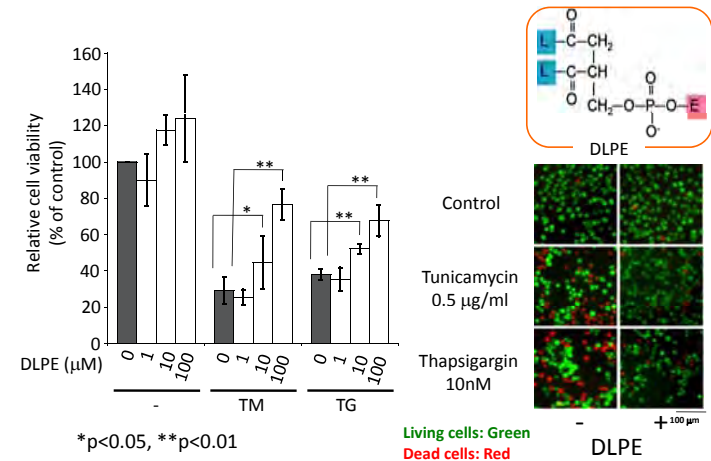
大豆脂質の脂肪酸組成

パルミチン酸	10~12%
ステアリン酸	2~5%
オレイン酸	20~25%
リノール酸	50~57%
リノレン酸	5~9%

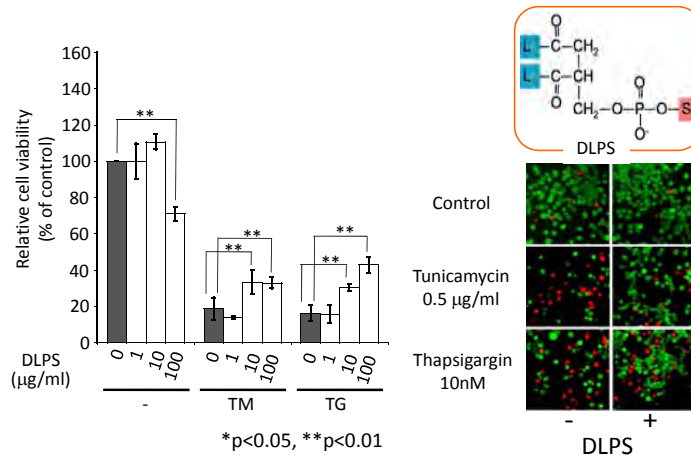
方法



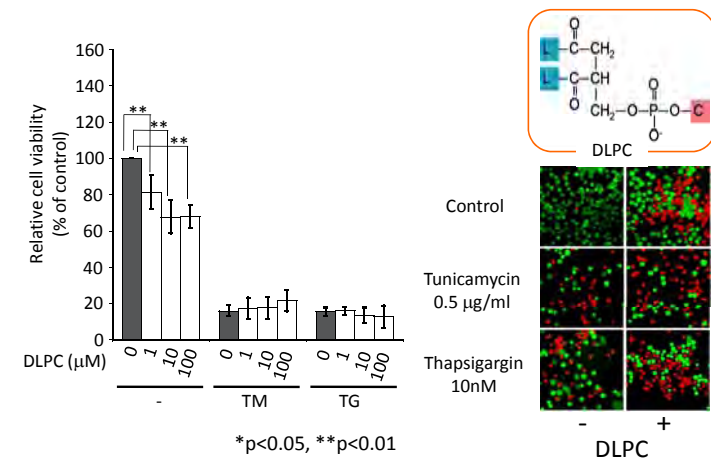
DLPEによる小胞体ストレス誘導細胞死抑制効果



DLPSによる小胞体ストレス誘導細胞死抑制効果



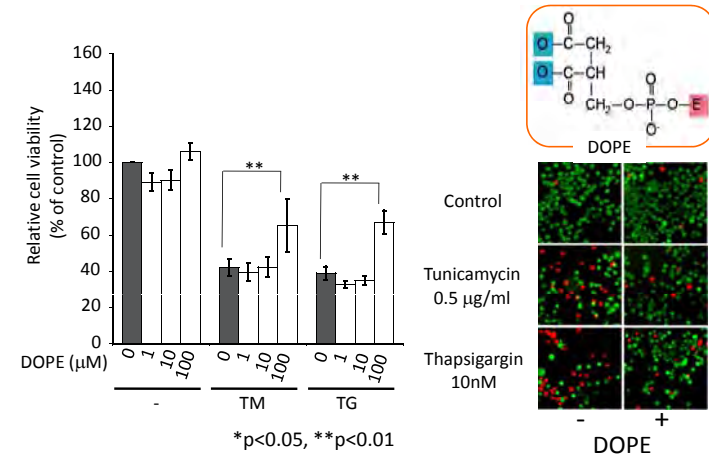
DLPCによる小胞体ストレス誘導細胞死抑制効果



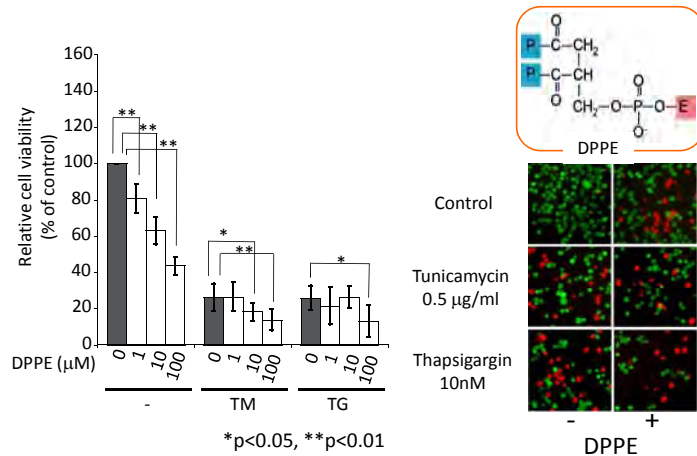
リン酸エステル部分の構造と保護活性との関連

		cytoprotective activity
ethanolamine	-CH ₂ -CH ₂ -NH ₃ ⁺	+
serine	-CH ₂ -CH-COO ⁻ NH ₃ ⁺	+
choline	-CH ₂ -CH ₂ -N ⁺ (CH ₃) ₂	-

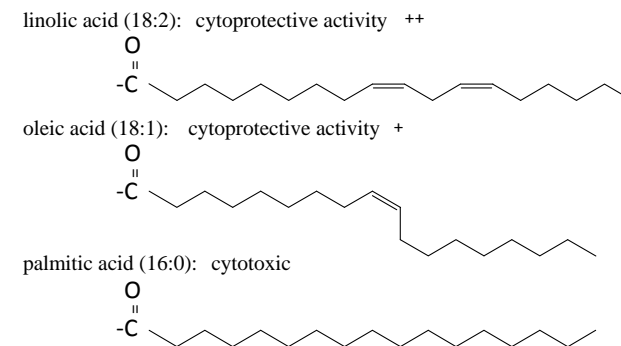
DOPEによる小胞体ストレス誘導細胞死抑制効果



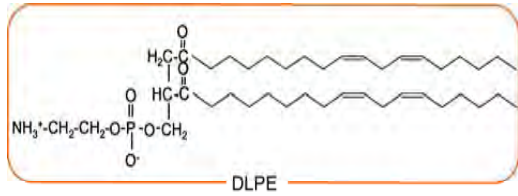
DPPEによる小胞体ストレス誘導細胞死抑制効果



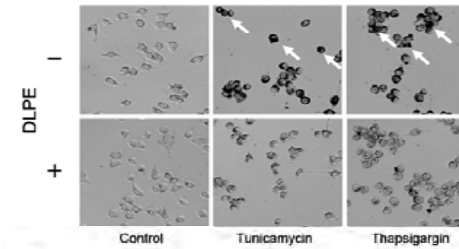
脂肪酸部分の構造と保護活性との関連



DLPEの構造(保護活性が最も高い)

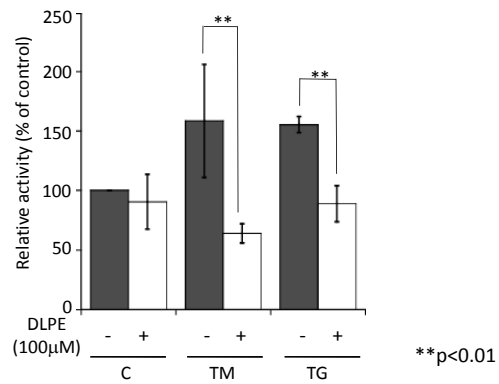


DLPEによるアポトーシス抑制効果
①ゲノムDNA分解抑制作用

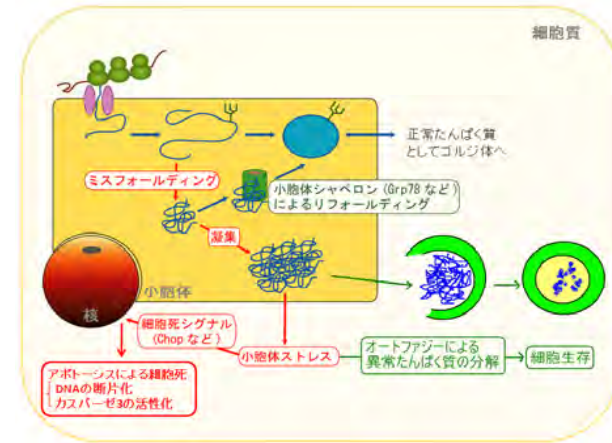


抗一本鎖DNA抗体染色によりアポトーシスに伴う核DNAの分解を検出
→DLPEの添加により核DNAの分解が抑制された。

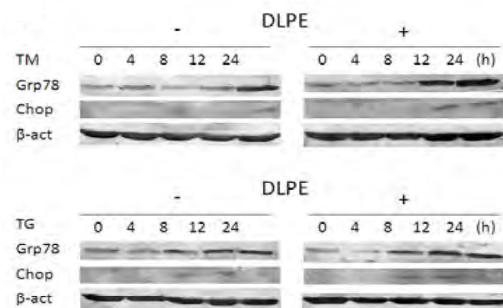
DLPEによるアポトーシス抑制効果
①カスパーゼ3活性化抑制作用



小胞体ストレス誘導神経細胞死に関わるシグナル

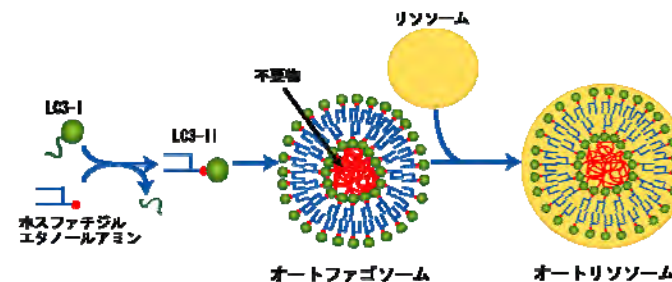


DLPEによる小胞体ストレスシグナルに対する作用



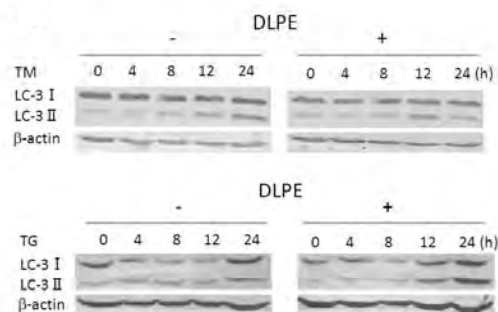
Grp78: 小胞体シャペロンタンパク質の一種
Chop: 小胞体ストレスに伴い発現上昇する転写調節タンパク質

オートファジーの形成機構



LC3タンパク質がDLPEを含むホスファチジルエタノールアミン(PE)と結合し、オートファゴソーム膜を形成する。
PEとの結合過程でLC3は部分分解を受ける。

DLPEによるオートファゴソーム形成に対する作用



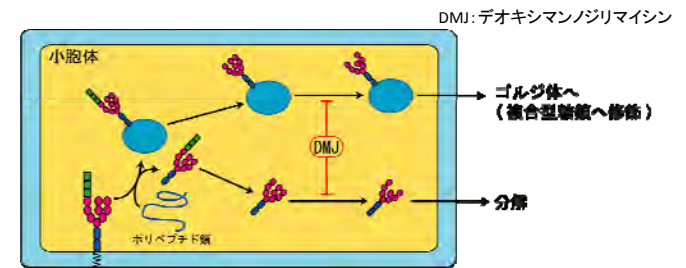
DLPEにはオートファゴソーム形成を早める作用が観察された。

2. まとめ

- リン脂質の中でホスファチジルエタノールアミンやセリンには小胞体ストレスからの細胞保護効果が見られたが、コリンには認められなかった。
- リン脂質の脂肪酸組成に関しては、リノール酸が最も高い保護効果を示した。
- 保護機構としては、オートファジーによる異常タンパク質の分解が関与することが示唆された。

3.糖タンパク質糖鎖由来オリゴ糖による 神経保護効果について

小胞体内糖鎖付加・生合成経路

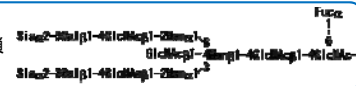


小胞体内でのタンパク質のフォールディングに糖鎖が重要であるという報告が多数あり

↓
小胞体内の糖鎖濃度を増加させることで小胞体ストレスが抑制されるか
小胞体内と類似の高マンノース型糖鎖によりアミロイド化が抑制出来るか

大豆中N-結合型糖タンパク質糖鎖の組成

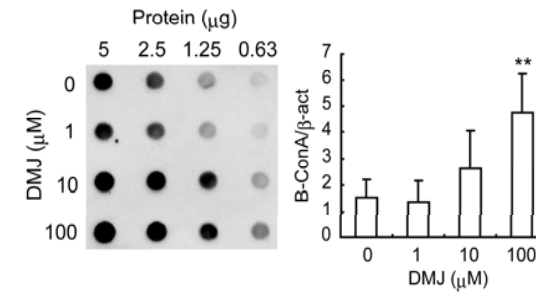
動物由来複合型糖鎖



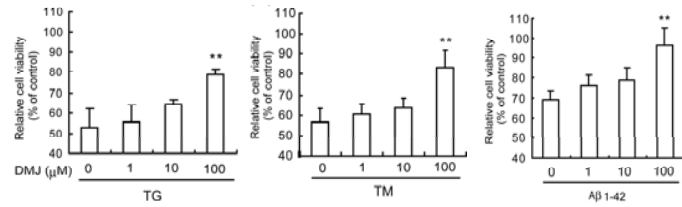
糖タンパク質糖鎖中の割合 (%)

	10.2
	23.8
	17.7
	38.1
	3.6
計 糖鎖	ほとんどの高マンノース型糖鎖

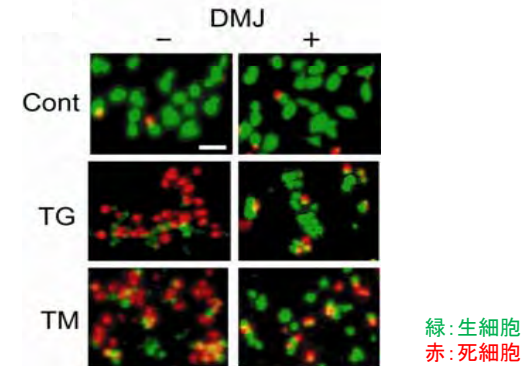
DMJ処理による細胞内高マンノース型糖鎖濃度への影響



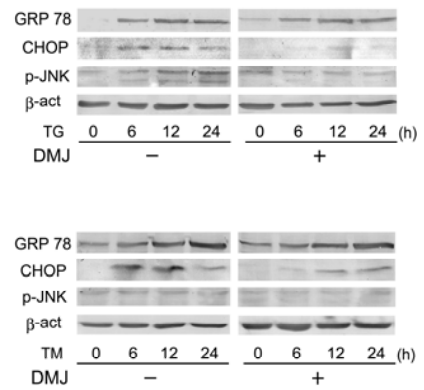
DMJ前処理による小胞体ストレス誘導
神経系細胞死に対する効果(MTT法)



DMJ前処理による小胞体ストレス誘導
神経系細胞死に対する効果(生死細胞染色)

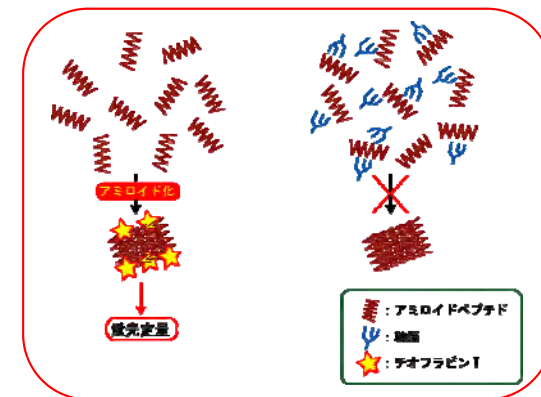


DMJ前処理による小胞体ストレスシグナルに対する効果

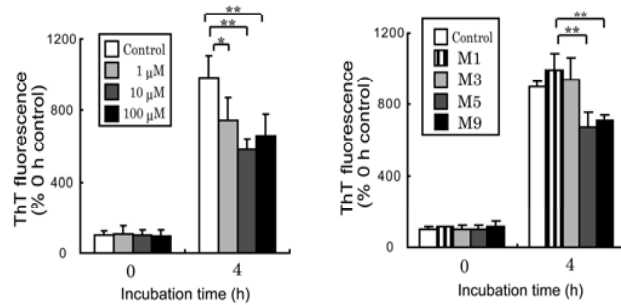


糖鎖によるアミロイド化抑制効果の実験方法

アルツハイマー病の原因アミロイド-βのアミロイド化に対する高マンノース型糖鎖の抑制作用をチオフラビンI蛍光法により解析を行った。



高マンノース型糖鎖によるアミロイド形成抑制効果

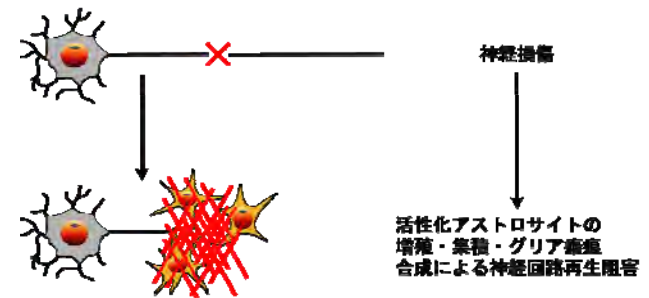


3. まとめ

- DMJ前処理により細胞内の高マンノース型糖鎖の濃度を上昇させることが出来ることを見出した。
- DMJ前処理により小胞体ストレス誘導神経系細胞死が抑制されることが分かった。
- DMJ処理により小胞体ストレスシグナルの内、細胞死に関わるChopの発現上昇やJNKのリン酸化を抑制出来ることを見出した。
- 高マンノース型糖鎖によりアミロイド-βのアミロイド化を抑制出来ることが分かった。

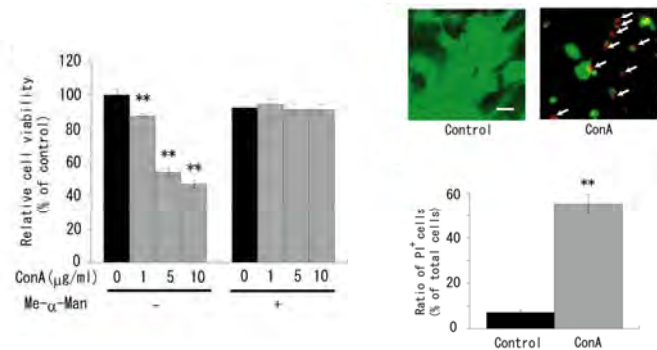
4. マメ科由来レクチンによる神経再生促進の可能性について

アストロサイト活性化による神経回路再生阻害

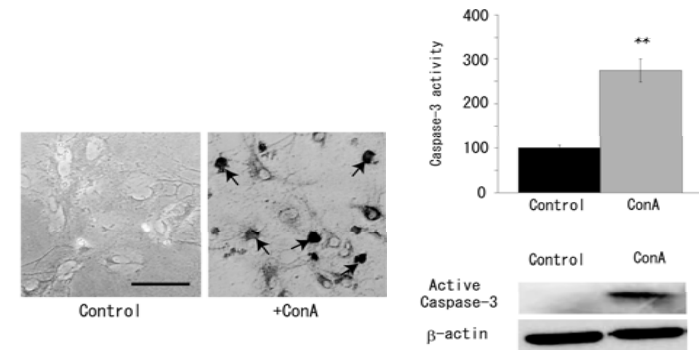


マメ科由来レクチンの一種コンカナバリンA(ConA)によりこのアストロサイトの活性化を抑制出来るか？

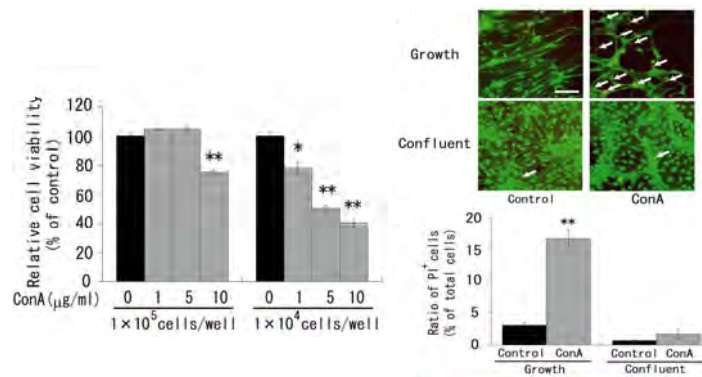
ConAによる初代培養アストロサイト に対する細胞死誘導効果



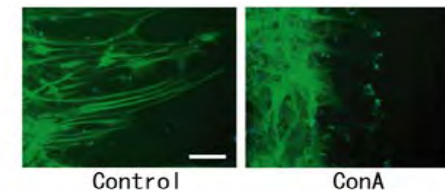
ConAによる初代培養アストロサイト に対するアポトーシス誘導効果



ConA誘導アストロサイト細胞死の細胞密度依存性



ConAによる活性化アストロサイトの 先導突起に対する影響



Scratch-wound後のアストロサイト細胞移動時に見られる先導突起がConA処理により消失する。

4. まとめ

- ConAにより増殖・移動状態にあるアストロサイト優先的に細胞死を誘導出来ることを見出した。
- ConA処理により障害部位へのアストロサイトの浸潤を抑制出来ることが示唆された。