

A-3-2

抗酸化物質エルゴチオネインによるアミロイド β 誘発神経毒性の保護効果

柴垣 郁弥¹、加藤 優希¹、嶋田 遼賀¹、松本 聡²、中道 範隆¹

¹高崎健康福祉大・薬・分子薬物治療、²(株)エル・エス コーポレーション・製造開発

アルツハイマー病 (AD) は、コリン作動性神経の脱落を特徴とする神経変性疾患である。アミロイド β ($A\beta$) が凝集した $A\beta$ オリゴマーによりタウタンパク質 (Tau) が過剰にリン酸化され、神経原線維変化が引き起こされることにより、神経細胞が脱落すると考えられている。抗酸化物質のエルゴチオネイン (ERGO) はラット褐色細胞腫 PC12 細胞における $A\beta$ 誘発細胞毒性を抑制することや AD モデルマウスの認知機能低下を改善することが報告されており、ERGO が AD に対して保護的に働く可能性が示されている。一方、ERGO による $A\beta$ 誘発神経毒性の保護メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞およびマウス海馬由来初代培養神経細胞において $A\beta$ による神経毒性およびリン酸化 Tau の発現増加に対して ERGO が抑制効果を示すのかについて検討した。SH-SY5Y 細胞は、レチノイン酸 (10 μ M) および 10% の牛胎児血清 (FBS) を含む培地と 1% の FBS を含む培地中で培養することにより、コリン作動性神経様に分化させた。初代培養神経細胞は、胎生 15 日齢の ICR マウスから海馬を単離し、トリプシン処理により細胞を分散させ、播種した。これら培養神経細胞に ERGO を前処置してからオリゴマー化した $A\beta$ を曝露し、細胞毒性を CytoTox-Glo Cytotoxicity Assay により評価した。また、薬物処置後の細胞からタンパク質を回収し、western blot 法によりリン酸化 Tau およびリン酸化 GSK-3 β の発現を解析した。SH-SY5Y 細胞および初代培養神経細胞において、 $A\beta$ の曝露により濃度依存的な細胞毒性がみられ、この細胞毒性は ERGO の前処置により有意に抑制された。また、SH-SY5Y 細胞および初代培養神経細胞への $A\beta$ 曝露は、リン酸化 Tau の発現を増加させ、ERGO はこの発現増加を抑制した。脱リン酸化による GSK-3 β の活性化が Tau のリン酸化を促進することが報告されているため、次に ERGO が GSK-3 β の活性化に及ぼす影響について検討した。初代培養神経細胞への $A\beta$ 曝露は、リン酸化 GSK-3 β の発現を減少させ、ERGO の前処置によりこの発現減少は抑制された。また、SH-SY5Y 細胞において ERGO の前処置はリン酸化 GSK-3 β の発現を増加させた。以上の結果から、ERGO は $A\beta$ による GSK-3 β の活性化およびリン酸化 Tau の発現増加を抑制することにより神経保護効果を発揮する可能性が示された。