



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	マウス海馬由来HT22細胞における酸化ストレス誘発性傷害に対するブラジル産グリーンプロボリスの神経保護作用(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	高島, 麻都花
Report No.(Doctoral Degree)	博士(工学) 連創博甲第49号
Issue Date	2019-09-27
Type	博士論文
Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/79054

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	高島 麻都花（福岡県）
学位の種類	博士（工学）
学位授与番号	甲第 49 号
学位授与日付	令和 元 年 9 月 27 日
専攻	創薬科学専攻
学位論文題目	マウス海馬由来 HT22 細胞における酸化ストレス誘発性傷害に対するブラジル産グリーンプロポリスの神経保護作用 (Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxidative stress-induced cell death in mouse hippocampal HT22 cells)
学位論文審査委員	(主査) 教授 上 田 浩 (副査) 教授 田 中 香お里 (副査) 教授 竹 森 洋 (副査) 准 教授 大 橋 憲太郎 (副査) 教授 森 田 洋 子

論文内容の要旨

プロポリスは、ミツバチが種々の植物の新芽や樹脂から作り出す粘着性の物質であり、含有成分は起源植物により特徴づけられる。ブラジル産グリーンプロポリスの起源植物は *Baccharis dracunculifolia* であり、桂皮酸誘導体やフラボノイド類、カフェオイルキナ酸類など様々な成分で構成される。また、プロポリスの抽出物は抽出方法によって抽出される成分の種類や量が異なる。プロポリス抽出物の機能性は抗菌作用や免疫調節作用など多岐に渡り、民間療法や健康食品素材として利用されている。

高齢化社会に突入した現代において、医療費の高騰は深刻な社会問題であり、予防医療が注目されている。加齢に伴って発症リスクが高まる疾患の一つにアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患があり、国内のみならず世界的にも患者数が増加している。神経変性疾患の発症機構は未だ不明確であり、根本的な治療法が確立されていない。しかし、これまでの研究により、神経変性疾患の発病には酸化ストレスが大きく関わっていることが明らかとなってきた。

本研究は脳、特に海馬における酸化ストレス誘発細胞死に対するプロポリスの作用について調べることを目的とした。マウス海馬由来 HT22 細胞を用いて、プロポリスのエタノール抽出物 (EEP) および水抽出物 (WEP)、EEP の主要な含有成分である 7 つの化合物の酸化ストレス誘導性細胞死 oxytosis および ferroptosis に対する作用を *in vitro* 試験で評価した。Oxytosis および ferroptosis は、それぞれ、過剰のグルタミン酸またはエラスチンにより起こる内因性酸化ストレス誘導性細胞死で、アポトーシス、ネクローシス、オートファジーなどとは異なることが報告されている。WEP および EEP は HT22 細胞における oxytosis または ferroptosis を抑制し、その作用は EEP の方が強かった。EEP の保護作用について、artepillin C、kaempferide、kaempferol が関与成分であることを明らかにした。EEP および関与成分は、何れも細胞内の活性酸素種 (ROS) の増加を抑制した。EEP や kaempferide、kaempferol は細胞内の抗酸化システムのひとつである Nrf2-ARE 経路を活性化することが分かった。また、EEP は Nrf2-ARE 経路の下流にあるヘムオキシゲナーゼ-1 の発現量を増加させることにより抗

酸化作用を示している可能性が示唆された。一方で、artepillin CによるNrf2-ARE経路の活性化は認められず、EEPとは異なる機構でROSの増加を抑制していると考えられる。以上の結果から、ブラジル産グリーンプロポリスには神経変性疾患など酸化ストレスにより誘発される疾患に対する予防薬や代替療法としての有用性が期待される。

論文審査結果の要旨

本論文は、ブラジル産グリーンプロポリスの内因性酸化ストレスに及ぼす影響に関する一連の研究内容をまとめ、健康食品素材としてのプロポリスの効用に科学的証拠を示したものである。プロポリスは健康食品の素材として注目され、近年その消費量も増加しているが、効能を裏付ける科学的証拠に乏しいことが問題となっている。本研究ではプロポリスの抗酸化作用について着目した。酸化ストレスは、アルツハイマー病等の神経変性疾患のみならず、癌・糖尿病など多くの疾患の発症・進行に関わることが報告されている。申請者は、内因性の酸化ストレスモデルとして汎用されているマウス海馬由来HT22細胞を用い、プロポリス抽出物の酸化ストレス誘導性細胞死オキシトーシスおよびフェロトーシスに対する作用を細胞イメージング法・ウエスタンブロット法などを用いて検討し、プロポリスエタノール抽出物(EEP)中の有効成分を同定した。オキシトーシスおよびフェロトーシスは、それぞれ、過剰のグルタミン酸またはエラスチンにより起こる内因性酸化ストレス誘導性細胞死で、アポトーシス・ネクローシス・オートファジーなどとは異なる機構で起こることが報告されている。本論文は、EEPがHT22細胞におけるオキシトーシスおよびフェロトーシスを抑制し、その有効成分はartepillin C、kaempferide、kaempferolであることを明らかにした。EEPおよび関与成分は、何れも細胞内活性酸素種の産生を抑制した。これらの物質はいずれも*in vitro*でスーパーオキシドアニオンの消去作用を示した。さらに、EEP、kaempferideおよびkaempferolは主要な細胞内抗酸化システムNrf2-ARE経路を活性化しシグナル下流のヘムオキシゲナーゼ-1の発現量を増加させることにより抗酸化作用を示すことが示唆された。一方で、artepillin CはNrf2-ARE経路を活性化しなかった。以上の結果から、ブラジル産グリーンプロポリスには神経変性疾患など酸化ストレスにより誘発される病態に対する予防薬や代替療法としての有用性が期待される。

本知見は、プロポリスおよびその成分の神経細胞に対する抗酸化作用およびその作用機序を明らかにしたもので、博士論文として価値あるものと判定した。

最終試験結果の要旨

高島麻都花さんの論文はブラジル産グリーンプロポリスの内因性酸化ストレスに及ぼす影響に関する一連の研究内容をまとめ、健康食品としてのプロポリスの効用に科学的証拠を示したものである。審査付き論文として公表済みで、本論文が学位論文として完成された内容であることを確認した。公聴会においては、学位論文の内容に関する事項、すなわち、神経細胞株におけるプロポリス抽出物による酸化ストレス誘導性細胞死抑制作用機構の解明、抽出物中の有効成分の同定、今後の研究の方向性などに関して諮問を行った。申請者からは十分な内容の回答が得られたので、博士(工学)の学位に適するものと判断し、最終試験に合格したと判定した。

論文リスト

1. Takashima M, Ichihara K, Hirata Y, Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells, Food Chem Toxicol 132 (2019) 110669.

【Impact Factor: 3.775, CiteScore: 3.78】