

A β 凝集による細胞運動の阻害と ロスマリン酸によるその緩和効果の評価

SATテクノロジー・ショーケース2026

■ はじめに

アルツハイマー病 (AD) はアミロイド β (A β) が脳内に凝集・蓄積することで神経細胞死を誘発し、脳の一部分が損傷して発症すると考えられている (Hardy and Selkoe, Science, 2002)。当研究室では、これまでにA β 凝集が神経化したラット副腎髄質褐色細胞腫由来PC12細胞の突起形成や遊走を抑制することを報告してきた (Kuragano et al., Sci. Rep., 2020)。こうしたA β 凝集体が関連する疾患である脳アミロイドアンギオパチー (CAA) はADの治療薬である「抗アミロイド抗体薬」の副作用として知られている。CAAでは脳血管へのA β 凝集体の沈着が原因となる (Kawai et al., Brain Research, 1993)。我々はA β 凝集が細胞骨格の異常な組織化を通して、ヒト脳血管内皮細胞の運動性を破綻させることを明らかにした (Take et al., BB report, 2021, Maeda et al., Exp. Cell Res., 2024)。そこで本研究では、ADとCAA発症機序におけるA β 凝集の寄与の理解を深めるため、A β 凝集によるPC12細胞への遊走能力とヒト脳血管平滑筋細胞 (hVSMCs) の収縮能力への影響の解析を試みた。さらに、*in vitro*でのA β 凝集阻害効果が知られているロスマリン酸を用いて、A β 凝集によるPC12細胞の遊走阻害の緩和も試みた。

■ 活動内容

1. A β 凝集によるPC12細胞の遊走阻害

Poly-D-lysineコートした96 well-plateにPC12細胞を播種し、神経成長因子を添加、神経細胞へ分化させた。細胞の遊走能を評価する手法であるWound healing assay (WHA) を行うため、コンフルエント状態の単層培養細胞をつまようじで引っ掻き、無細胞領域を作成した。その後、倒立型蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。A β 凝集体の可視化には量子ドット標識A β (QDA β)を用いた (Tokuraku et al., PLoS One, 2009)。F-actinの可視化はSiR-actinを用いた (Lukinavicius et al., Nature Methods, 2014)。PC12細胞に20 μ M A β および25 nM QDA β を加えた結果、PC12細胞が遊走する際に進行方向に形成する突起周辺にA β 凝集体が優先的に沈着し、突起が退縮する様子が確認できた。A β 凝集とともに、F-actinで構成される収縮性繊維であるストレスファイバー (SF) が崩壊し、アクチンが異常な凝集を起こす様子も観察できた。

2. A β 凝集による遊走阻害のロスマリン酸による緩和効果
シソ科植物由来のロスマリン酸 (RA) は*in vitro*において、A β 凝集阻害活性を示す (Ishigaki et al., PLoS One, 2013)。WHA時にPC12細胞を25 μ M A β で処理し、さらに様々な濃度のRAを添加し、遊走速度と方向持続性を測定した。その結果、25 μ M A β のみの条件下と比較し、12~60 μ M RAを添加することで、遊走速度と方向持続性が有意に回復した (Fig. 1)。以上の結果は、A β 凝集の細胞への沈着が遊走阻害の原因であること、さらにRAがPC12細胞の遊走速度と方向持続性を回復させることを示す。

3. A β 凝集によるhVSMCsの細胞収縮力の喪失

hVSMCsを用い、細胞表面へのA β 凝集体の沈着過程をreal-time imagingにより解析した。hVSMCsのSFをSiR-actinによって可視化し、20 μ M A β を添加してTime lapse観察を行った。その結果、A β 凝集体が沈着した細胞において、SFが崩壊していく過程を観察することに成功した。さらに、gel contraction assayを用いて、細胞が発生する収縮力に対するA β 凝集体の影響を解析したところ、A β 凝集体の存在により、hVSMCsによるcollagen gelの収縮がコントロールと比較して有意に抑制された。今後、A β 凝集によるhVSMCsの収縮力の低下において緩和効果のある物質を探索していく予定である。

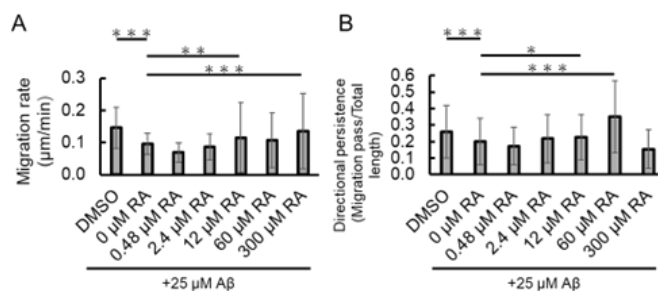


Fig. 1. A β 凝集による細胞運動阻害に対するRAの緩和効果。細胞の核をHoechstによって染色し、Real time imagingによって得られた動画から画像解析ソフトウェアFIJI (NIH)を用いて遊走速度 (A) と方向持続性 (B) を定量した。n \geq 206 cells, * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001。

代表発表者 茂泉 燈 (もいずみ あかり)
所 属 室蘭工業大学 理工学部
問合せ先 〒050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1
TEL: 080-7105-8683
Mails: 22026220@muroran-it.ac.jp

■キーワード: (1) アミロイド β
(2) アルツハイマー病
(3) 脳アミロイドアンギオパチー
■共同研究者: 藤原 綾香 (室蘭工業大学大学院工学研究科)
倉賀野 正弘 (室蘭工業大学大学院工学研究科)
徳楽 清孝 (室蘭工業大学大学院工学研究科)