

熱をもって熱ショック・酸化ストレスを制す

～熱ショックによるアスパラガス茎抽出成分のウシ卵巣細胞機能へのさらなる増強作用を発見～

ポイント

- ・アスパラガス茎抽出成分によるウシ卵巣細胞の熱ショックタンパク質 70 の特異誘導を発見。
- ・EAS 添加により活性酸素の減少、抗酸化物質の増加及びプロゲステロン合成を促進することを発見。
- ・暑熱ストレス下でも生殖に関連する細胞機能の維持、または増強させる可能性に期待。

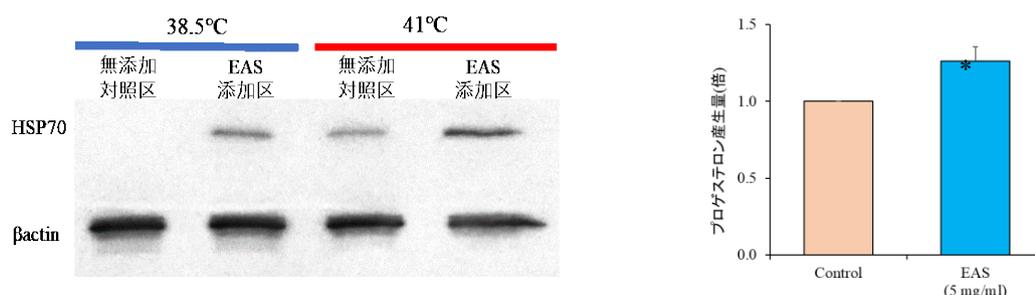
概要

北海道大学大学院農学研究院の高橋昌志教授らの研究グループは、株式会社アミノアップと共同で北海道が国内生産量 1 位を占める農産物であるアスパラガスの廃棄茎部から酵素分解・抽出・精製された機能性食品として知られる Standardized extract of Asparagus officinalis stem (EAS^{*1}) の卵巣細胞への効果を明らかにしました。

これまで EAS は体細胞において熱ショック刺激を与えることなく熱ショックタンパク質 (HSP)70^{*2} を特異的に誘導することが知られていましたが、生殖関連細胞への作用は未解明でした。研究グループはウシ卵巣細胞である卵丘-顆粒層細胞^{*3} を使った検証を行い、その結果、既報と同様な熱ショック非依存的に HSP70 の特異的誘導が引き起こされたことに加え、EAS は細胞内の酸化ストレスを低減したとともに、卵巣内の黄体から分泌される生殖ホルモンであるプロゲステロンの産生の増加作用を示しました。一方で、HSP70 活性の阻害によって活性酸素増加による酸化ストレスが増大しました。興味深いことに、EAS と熱ショック処理を併用することで、熱ショック処理単体でみられた活性酸素^{*4} の増加に伴った核 DNA 損傷などの細胞傷害が顕著に低下し、同時に細胞内抗酸化因子であるグルタチオンの顕著な増加がみられ、酸化ストレスを減少させる EAS の効果が相乗的に増強されることが明らかになりました。

これまで、暑熱ストレスは細胞内酸化ストレスを増加させ、哺乳動物の生殖機能を低下させることが知られていましたが、EAS と暑熱感作との相乗作用を活用することで、暑熱ストレス下でも生殖に関連する細胞機能の維持、または増強させる可能性が期待されます。

本研究成果は、2021 年 9 月 13 日 (月) 公開の Scientific Reports 誌にオンライン掲載されました。



牛卵巣細胞への EAS による熱感作との相乗的な HSP70 誘導とプロゲステロン産生促進

【背景】

アスパラガスは、北海道が生産量 1 位を占める農産物であり、古くから利尿作用や健胃作用などの健康への機能性も知られています。アスパラガスの収穫後、出荷のために長さをそろえる際、カットされた切り下部分は通常不可食部として廃棄されます。この未利用である茎部から酵素抽出・精製した機能性食品として知られる EAS が株式会社アミノアップによって開発され、細胞をストレスから守る重要な役割を持つことが知られている熱ショックタンパク質(HSP)70 に熱ショックをかけることなくその発現を誘導する作用があることが、ヒトや実験動物の体細胞で明らかにされました。EAS は、現在サプリメント(ETAS®)として利用されているとともに、細胞機能活性や免疫応答などの観点からも研究が継続中であり、新たな機能の発見が期待されていました。

一方で、近年夏季の高温による暑熱ストレスは、家畜を含む哺乳動物の卵子成熟、受精や発生に悪影響を及ぼし、繁殖性を低下させる深刻な問題となっています。本研究グループの過去の研究によって、暑熱ストレスに起因する細胞内の活性酸素の増加による障害が生殖機能阻害要因の一つとして注目されています。熱ショックを受けた細胞や組織内では、熱ショックにより誘導される熱ショックタンパク質 70(HSP70)が熱変性などによる機能不全を起こしたタンパクの構造、機能の防御を担う分子シャペロンとして働くことが広く知られていますが、熱ショックは同時に細胞内活性酸素の上昇による DNA 損傷や遺伝子、タンパク質発現や機能への悪影響も引き起こします。

これまで、EAS による非熱ショック HSP70 誘導が生殖関連細胞の機能に及ぼす作用並びに暑熱ストレス負荷環境下での細胞応答機構に関しての研究知見はありませんでした。

本研究では、ヒトや実験動物の体細胞にて報告された EAS の非熱ショック HSP70 誘導によるシャペロン機能強化によるストレス耐性の付与が、生殖にかかわる細胞への効果と作用機構を解明することを目的として、卵巣内で発育した卵子が排卵された後に卵巣に残り、その後妊娠や卵子発育に重要な役割をもつホルモンであるプロゲステロンの産生に関与する黄体と呼ばれる組織に分化する細胞である卵丘-顆粒層(cumulus-granulosa:CG)細胞への EAS の作用を牛の細胞を用いて検証しました。

【研究手法】

研究グループでは、食肉処理場より採取したウシ卵巣より、CG 細胞を採取、培養し増殖した単層細胞を試験に供しました。1)EAS を既報の効果添加量をもとに濃度を変えて CG 細胞培養液に添加し、誘導濃度を検討しました。2)EAS 添加後、HSP70 の遺伝子発現並びに他の熱ショックタンパク質として知られる HSP90, 25 の遺伝子の発現も併せて実施しました。さらに、EAS 添加に熱ショック処理(41°C)12 時間を併用し、細胞内活性酸素、細胞内還元物質であるグルタチオンならびに核 DNA 損傷を蛍光にて検出しました。3)HSP70 の阻害剤を用いて EAS により誘導された細胞内酸化還元環境への影響を解析しました。4)CG 細胞が分化して黄体細胞として機能する際に産生されるプロゲステロンの濃度を測定しました。

【研究成果】

1)EAS 添加により、代表的な熱ショックタンパク質 HSP27, 70 及び 90 のうち、HSP70 にのみ熱ショック非依存的な特異誘導がみられました(図 1)。2) EAS 添加により、非暑熱環境下において細胞内活性酸素の減少と活性酸素により生じる DNA の損傷が減少したとともに、酸化ストレス防除に重要な還元物質であるグルタチオンの増加がみられました(図 2 左 対照区)。さらに非常に興味深いことに、熱ショックを与えて培養した卵丘-顆粒層細胞では、HSP70 の増加がみられたにもかかわらず、活性酸素の増加、DNA 損傷並びにグルタチオンの低下がみられ、HSP70 による細胞機能防護作

用がみられなかったのに対して、EAS を添加して熱ショック処理を行うと、活性酸素が減少、グルタチオン量が増加し、DNA 損傷の減少がみられたことに加えて、HSP70 の遺伝子、タンパク質共に相乗的な発現増加がみられました(図 2 右 暑熱区)。3)HSP70 の活性阻害剤を添加することで、EAS 存在下でも活性酸素の増加とグルタチオンが減少し、HSP70 のシグナル経路による酸化ストレス防除機構の存在が明らかとなりました(図 3)。4)EAS を添加することで CG 細胞からのプロゲステロン産生量が増加しました。

【今後への期待】

以上の結果から、EAS は熱ショック非依存的に HSP70 の特異的誘導を引き起こし、細胞内の酸化ストレスを低減することとともに、黄体ホルモンの産生を促進することが明らかになりました。加えて、熱ショック処理を併用することで酸化ストレスを誘導せずに HSP70 発現への EAS の効果が相乗的に増強されることが明らかになりました。

今後、生殖機能にかかわる細胞や組織への機能発現並びに暑熱ストレス負荷時での EAS の効果のさらなる検証を進めていく予定です。

本研究は、国内産農産物の未利用資源を有効活用した機能性食品が生殖細胞や組織の機能にかかわる新たな作用を明らかにしていくうえで、今後さらなる展開が期待されます。

【謝辞】

本研究は、公益財団法人飯島藤十郎記念食品科学振興財団の助成を受けて実施されました。

論文情報

論文名	A standardized extract of Asparagus officinalis stem improves HSP70-mediated redox balance and cell functions in bovine cumulus-granulosa cells (アスパラガス茎抽出物はウシ卵丘-顆粒層細胞における HSP70 が関与する酸化還元バランスと細胞機能を促進する)
著者名	Ho Thieu Khoi ^{1,3} , Kohei Homma ² , Jun Takanari ² , Hanako Bai ¹ , Manabu Kawahara ¹ , Nguyen Thi Kim Khang ³ , Masashi Takahashi ⁴ (¹ 北海道大学大学院農学院, ² 株式会社アミノアップ, ³ ベトナム カントー大学農学部, ⁴ 北海道大学大学院農学研究院)
雑誌名	Scientific Reports
DOI	10.1038/s41598-021-97632-6
公表日	2021 年 9 月 13 日 (月) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院農学研究院 教授 高橋昌志 (たかはしまさし)

T E L 011-706-2542 F A X 011-706-2537 メール mmasashi@anim.agr.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.agr.hokudai.ac.jp/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

株式会社アミノアップ営業部 広報担当 (〒004-0839 北海道札幌市清田区真栄 363-32)

T E L 011-889-2555 F A X 011-889-2288 メール au_pr@aminoup.jp

【参考図】

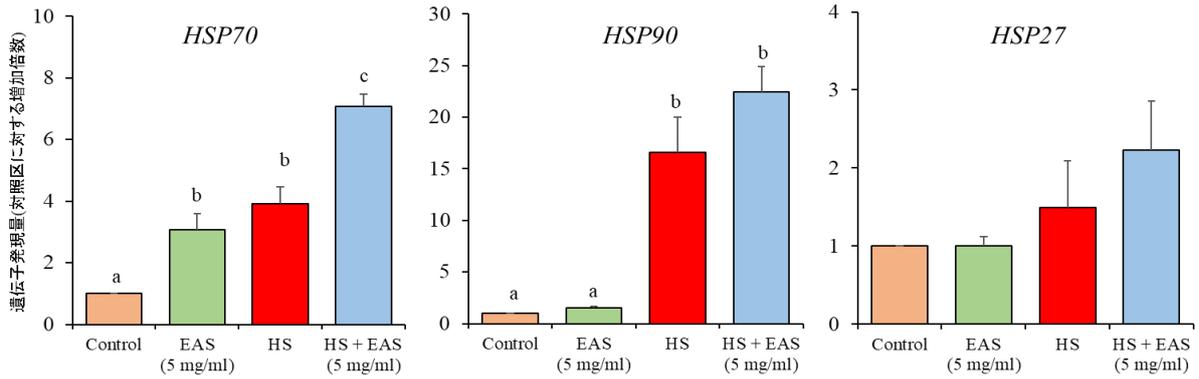


図 1. EAS による HSP70 特異的な遺伝子発現誘導

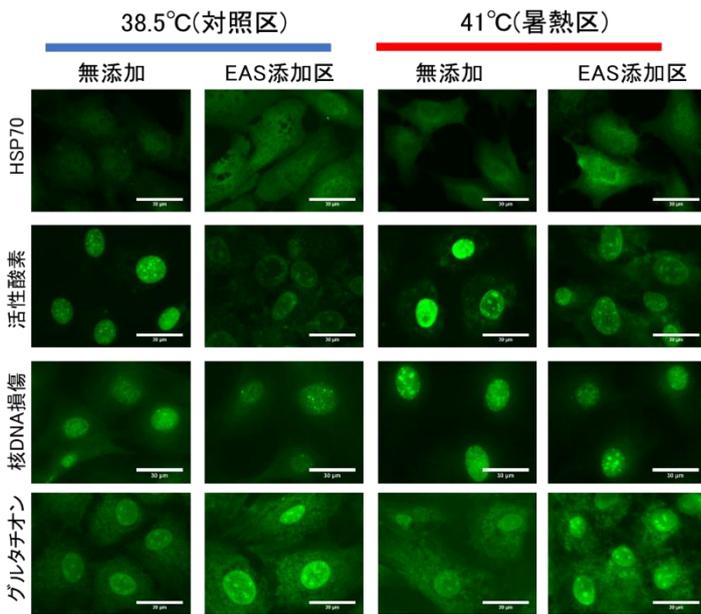


図 2. HSP70 発現並びに細胞内酸化還元環境に及ぼす EAS 及び暑熱付加の影響

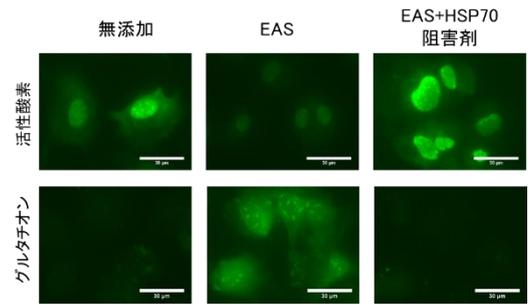


図 3. HSP70 活性阻害による EAS 誘導酸化還元環境の崩壊

【用語解説】

- * 1 EAS … アスパラガス茎抽出成分(Standardized extract of Asparagus officinalis stem) アスパラガスの収穫後、出荷のために長さをそろえる際にカットされ廃棄される茎部から酵素抽出・精製した機能性食品(商品名 ETAS®)として知られる。
- * 2 熱ショックタンパク質(HSP)70 … 熱ショックタンパク質 (Heat Shock Protein, HSP) と呼ばれる熱刺激によって誘導される主要な熱誘導タンパク質群に属する分子量が7万(70kDa)のタンパク質。HSP70 は分子シャペロンとして、熱変性したタンパク質の凝集やポリペプチド構造の折り畳みエラーの防止、輸送、集合や不要タンパク質の分解などに関与する。
- * 3 卵丘-顆粒層細胞 … 哺乳動物卵巣内の卵胞内で卵子発育を担う細胞群。成熟卵子の排卵後に卵巣内に残存して黄体と呼ばれる組織に分化し、妊娠や卵子発育に重要な役割をもつホルモンであるプロゲステロンを産生する。
- * 4 活性酸素 … Reactive Oxygen Species(ROS) と呼ばれ、大気中に含まれる酸素分子が、細胞内でエネルギー産生の過程で生成される反応性の高いラジカル分子の総称。細胞内の酵素で分解しきれない余分な活性酸素は細胞内の DNA 損傷、タンパク質過酸化を引き起こし、癌化や老化の原因になる。