

審査の結果の要旨

氏名 山本 将史

山本は、「アミロイド β オリゴマーの安定化を指向したアミロイド β 1-42 誘導体のデザインと合成」というタイトルで以下の研究を行った。

【研究背景】

アルツハイマー病 (AD) は、認知機能の低下を主症状とする神経変性疾患の一つである。AD の患者に特徴的に観察される老人斑は、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) が凝集・蓄積したものである。しかし、様々な $A\beta$ 凝集体の中で、線維よりもむしろオリゴマーの毒性が強いと考えられており、従って、 $A\beta$ オリゴマーの性質を解析することは AD の毒性本体に迫る重要な研究であると考えられる。しかし、 $A\beta$ オリゴマーは動的に構造変化を起こし、不安定であるため、凝集混合物の中から毒性本体に相当するオリゴマーを単離しその性質解析することは困難である。そこで山本は、 $A\beta$ に対し化学修飾を施すことにより、 $A\beta$ オリゴマーを安定化し、均一性が高く解析が可能な $A\beta$ オリゴマーを取得することを計画した。

【方法・結果】

Asp^{23} と Lys^{28} の側鎖の塩橋構造は、 $A\beta$ 42 オリゴマーに特徴的に観察される。そこで山本は、 Asp^{23} の側鎖のカルボキシル基と Lys^{28} の側鎖のアミノ基を共有結合で連結することにより、 $A\beta$ オリゴマーを安定できるのではないかと考えた。さらに、可逆的な結合であるオキシム構造をリンカーとして採用することで、リンカーの結合・切断を介して、オリゴマーと線維の変換が可能になると考え、オキシム誘導体 **2** を設計・合成した (図 1)。 $A\beta$ 42 は、水への低溶解性、高い凝集性のため取り扱いが困難であることから、水への高い溶解性および低凝集性という特長を有する、O-アシルイソペプチド構造を有するオキシム誘導体(**3**)を合成ターゲットとした。合成した **3** は、中性条件下にて分子内 O-to-N アシル基転位反応を起こし **2** に変換された。

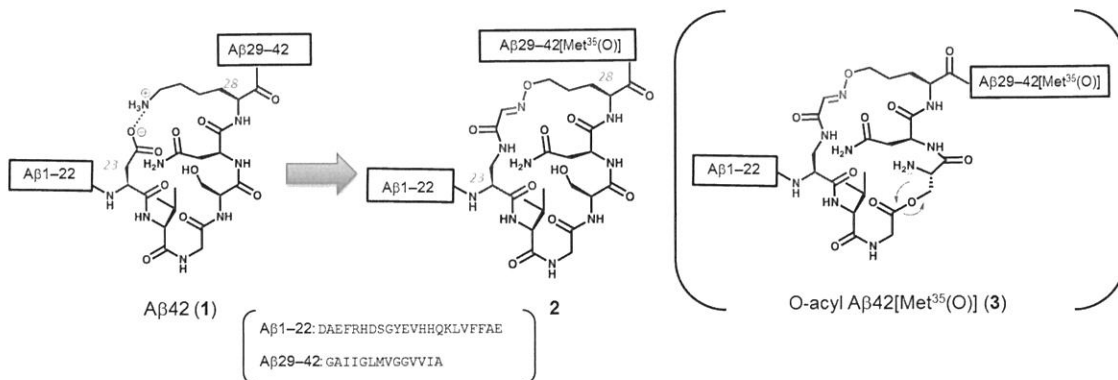


図 1 Asp²³-Lys²⁸ の塩橋構造を基にしたオキシム環化体の設計

山本は、AFM 及び SDS-PAGE 解析を行うことにより、**2** は安定なオリゴマーを速やかに形成するのにに対し、リンカーを持たない **4** は低分子量オリゴマーを形成したのち、急速に大きな凝集

体(繊維)へと成長することを明らかにした(図2)。また、CDスペクトル及びチオフラビンTアッセイより、**2**は、アミロイドに特徴的なクロスβシート構造を保持したオリゴマーを形成していることがわかった。さらに、**2**は神経毒性を保持していた。

一方、山本は、NH₂OMeを添加することにより**2**を**5**へ変換できることを明らかに

した(図3)。NH₂OMe 10 mMの反応液をAFMにて解析したところ、明らかな線維が観察された。本解析より、**2**は23番目と28番目の側鎖間でオキシム形成しているときはオリゴマー状態をとり、このオキシムが開環されると線維へ変換することが示された。

さらに山本は、Aβ₄₂のAsp²³とLys²⁸の側鎖においてラクタム結合した誘導体を合成し、その

性質を評価した。その結果、Aβ₄₂のAsp²³とLys²⁸の側鎖をラクタム結合で閉環した誘導体は、クロスβシート構造や神経毒性を有するオリゴマーの形成を促進した。他方、Asp²³とLys²⁸の側鎖をラクタム結合で閉環したAβ₄₀誘導体は、線維の形成を促進することが報告されている。したがって、Aβ₄₂におけるAsp²³とLys²⁸の塩橋構造は、オリゴマーの安定化に寄与している可能性が考えられ、ひいては、Aβ₄₂が示す特異な高い神経毒性のメカニズムの一端を説明するものかもしれない。

以上のように山本は、Aβ₄₂に対し、Asp²³とLys²⁸の側鎖に存在する塩橋構造代替としてオキシム結合を導入することにより、リンカーの開閉によるオリゴマー/線維の化学変換に成功した。また、塩橋構造をラクタム結合で代替した誘導体も、オリゴマー状態を安定化し、Aβ₄₂の塩橋は、オリゴマー状態の安定化に重要な役割を担っていることが示唆された。これらの方法論や知見は、今後Aβの神経毒性研究に活かされることが期待でき、また、化学の発展にも大きく寄与するものと考えられる。従って、博士(薬科学)の学位論文として合格と認められる。

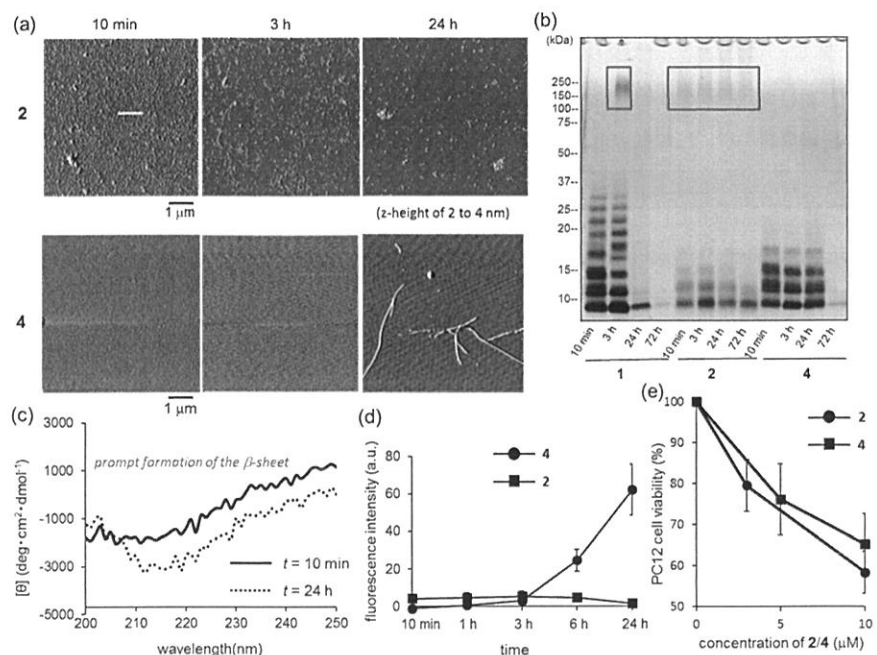


図2 オキシム環化体の性質評価

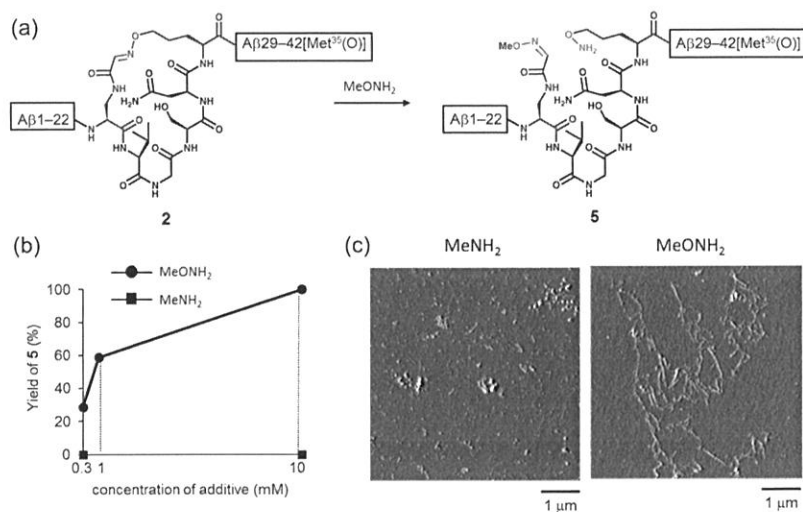


図3 オキシムリンカーの切断