

篠田清道は、「アルツハイマー病の原因物質の構造解明を指向した安定なアミロイド β オリゴマーの合成」というタイトルで、以下の研究を行った。

背景と目的

アミロイド β ($A\beta$) は、アルツハイマー病 (AD) に関与するとされる、凝集性・神経毒性を特徴とするペプチドである。 $A\beta$ 単量体が凝集するとオリゴマー、フィブリル等の様々な凝集体が形成されるが、それらの中で神経毒性を主に担うのはオリゴマーであるとされている。したがって、対 AD の創薬研究を行う上で、 $A\beta$ オリゴマーは極めて有望な標的であると考えられる。

$A\beta$ オリゴマーを標的とした創薬を行うにあたり、その X 線結晶構造情報は極めて有用であるが、現在までこれはほとんど明らかになっていない。 $A\beta$ オリゴマーの会合度は $A\beta$ の凝集性ゆえ動的に変化するため、単一会合度のオリゴマーが安定に存在することはなく、不均一・不安定である (図 1 a)。しかし、X 線結晶構造解析を行う上では一般に、均一性・安定性が必要である。したがって、 $A\beta$ オリゴマーの X 線結晶構造解析は凝集性ゆえに困難になっていると考えられる。

上記課題を解決し $A\beta$ オリゴマーの X 線結晶構造解析に至っているのは、Nowick らのグループのみである (図 1 b)。彼らは、 $A\beta$ 部分配列 ($A\beta_{17-23}$ および $A\beta_{30-36}$) を搭載した環状ペプチドが構成する三量体の結晶構造を報告している。主鎖アミド結合の N-メチル化およびアミノ酸の置換によって $A\beta$ 由来の凝集性を低減させたことで、結晶化が達成されたと推察される。しかしこの報告は、化学修飾を $A\beta$ 鎖の構造自体に施している点に改善の余地を残している。本来直鎖構造をとる $A\beta$ を環状化したと共に、主鎖アミド結合を N-メチル化しアミノ酸を置換したことにより、得られる結晶構造と $A\beta$ オリゴマーが本来とっている立体構造との間の相同性が損なわれてしまう可能性があるためである。また、この分子設計では三量体以外のオリゴマー (二量体, 四量体, 五量体など) の結晶構造を取得することができない点も、得られる構造生物学的知見が限られてしまうゆえ、改善が望まれると言える。

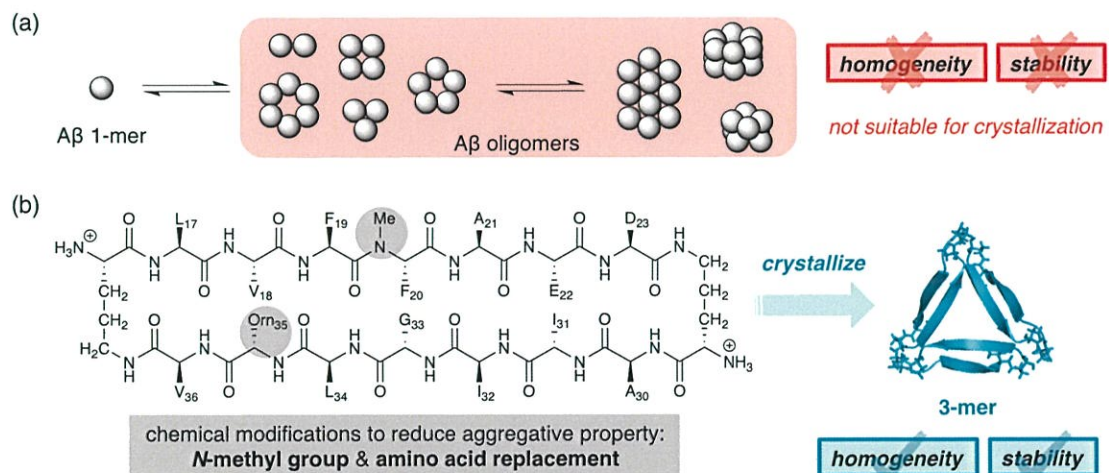


図 1. (a) $A\beta$ オリゴマーの結晶化は、その凝集性ゆえに困難である。(b) 化学修飾により凝集性を低減させたことで、均一性・安定性を付与し結晶化を達成した例。

以上を踏まえ篠田は、Nowick らの先行研究とは異なる分子設計により先述の 2 つの問題点を解決し、A β オリゴマーの結晶構造を解明することを目指した。分子設計の際に満たされるべき要件として、(1) 凝集性低減のための化学修飾を A β 鎖の構造自体には施さないこと、(2) 三量体以外のオリゴマーの結晶構造が取得可能な設計にすること、の 2 項目を設定した。

方法と結果

上記二要件を満たす分子設計として篠田は、環状ペプチド骨格に A β 鎖を共有結合させた A β オリゴマーモデル分子を考案した (図 2)。A β 鎖の代わりに環状ペプチド骨格に化学修飾を施すようにすることで、要件 (1) を満足できると考えた。また、共有結合させる A β 鎖の数を変えることで、同様の分子設計にて種々の A β オリゴマーを合成できることから、要件 (2) も満足できると考えた。この作業仮説に基づき、篠田は修士課程において、毒性部分配列 A β_{25-35} の三量体モデル分子 1 の合成を達成したが、1 は不安定であり結晶化には適さないと推察された。

安定性を向上させるための戦略として篠田は、環状ペプチド骨格に電荷を有する官能基を導入することを計画した。そのような官能基により誘起される三量体分子間の静電反発によって、三量体分子の安定性が向上すると推測した。種々検討の結果、負電荷を導入すれば安定性を向上させることができること、および、安定性の順序と負電荷の数との間に正の相関があることが見出された (負電荷の数が多いほど安定性が高い)。

以上の知見をもとに、篠田は環状ペプチド骨格の構造最適化を行い、生理学的条件にて少なくとも 4 日間は安定な A β_{25-35} 三量体モデル分子である 2 の創製に成功した (図 3)。安定性を向上させたことで、2 が A β の特徴である「A β 凝集体に特徴的な高次構造であるクロス β -シート構造を形成する能力」「神経様細胞に対する毒性」を喪失した可能性が想定された。しかし、アッセイの結果、2 はこれらの性質を共に喪失していなかったことから、研究目的である「A β オリゴマーの結晶構造解明」の達成に現状最も近いと期待される。

以上の業績は、A β オリゴマーの結晶構造解明という究極的な目標の達成に有意に寄与するものであり、博士 (薬科学) の学位論文として合格と認められる。

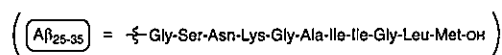
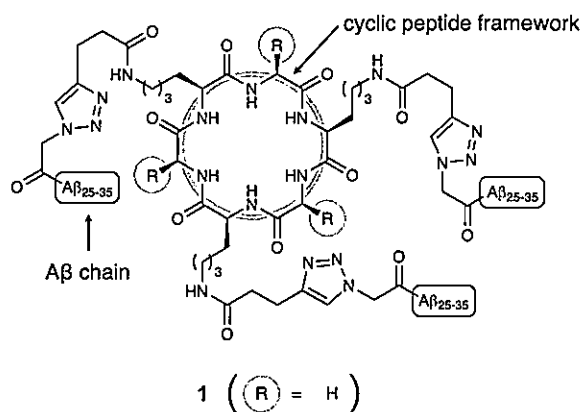


図 2. 三量体モデル分子 1 の構造式。

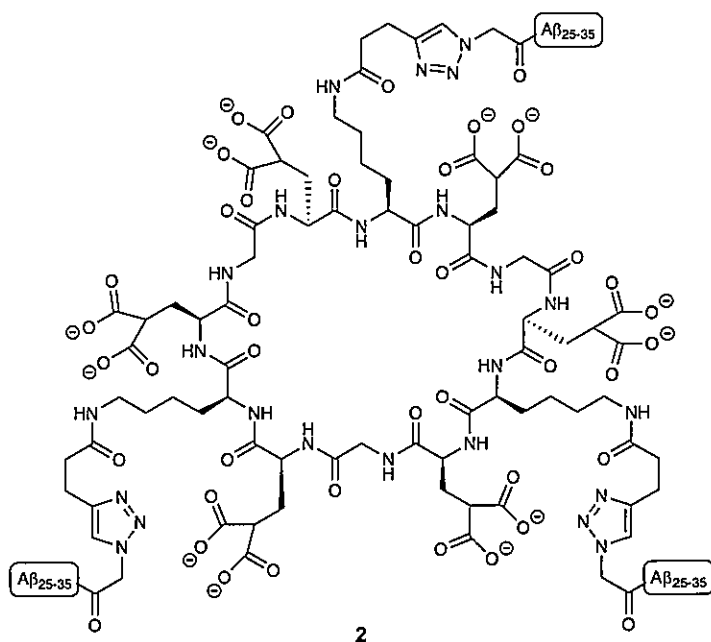


図 3. 三量体モデル分子 2 の構造式。