



| | |
|--------------|--|
| Title | Study on Metal-A β Interaction on Liposome Membrane to Control Oxidative Stress |
| Author(s) | 永見, 英人 |
| Citation | 大阪大学, 2005, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45915 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名 永見ひと人
 博士の専攻分野の名称 博士(工学)
 学位記番号 第19583号
 学位授与年月日 平成17年3月25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 基礎工学研究科化学系専攻
 学位論文名 Study on Metal-A_β Interaction on Liposome Membrane to Control Oxidative Stress
 (リポソーム膜上の金属-A_β相互作用と酸化ストレス制御に関する研究)
 論文審査委員 (主査)
 教授 久保井亮一
 (副査)
 教授 金田清臣 教授 田谷正仁
 蛋白質研究所教授 後藤祐児 助教授 馬越 大

論文内容の要旨

金属イオン(Cu(II)、Fe(II)など)はその酸化還元特性により、電子伝達系において必須であるが、その特性により生体物質に有害な活性酸素種(ROS)を生成し、生体系に対して毒性を示すことがわかっている。生体内ではSODあるいはCatalaseなどのROS消去金属酵素群により、このような相反する2つの能力を有する金属イオンが厳格に管理され、生体内的恒常性維持に高度利用されている。このような細胞内における金属誘導型ストレス(以下、金属ストレス)応答システムに対して、細胞外では知見が限られている。近年、タンパク質の構造異常に起因する、Conformational Diseaseが社会的な問題となりつつある。例えばAlzheimer病患者の場合、細胞外に切り出されたAmyloid β-Peptide(A_β)が、不溶な線維性凝集体を形成し、生体膜に沈着していることが明らかとなっている。このA_β凝集体形成がCu(II)により促進され、Alzheimer病の発症に関与しているという可能性が示されている。

本研究では、A_βに着目し、膜上におけるA_βと金属との相互作用ならびに線維性凝集体形成を解析し、A_βによる細胞膜外金属ストレス制御機構について評価・提案することを目的とする。さらに、得られた知見に基づいて、リポソームを用いた金属ストレス制御システム(金属捕捉・ROS完全分解)を開発した。第1章では、水溶液中におけるA_βと金属イオンの相互作用を評価し、A_β/金属錯体の配位構造およびA_βの高次構造の解析を行い、A_β凝集体形成との関連性を明らかにした。第2章では、生体内環境を反映した条件下でのA_βと金属イオンの相互作用を評価するために、メタルアフィニティーリポソーム固定化クロマトグラフィー(MA-ILC)を新たに開発し、その溶出挙動から膜上におけるA_βと金属の相互作用を解析した。第3章では、生体膜への金属ストレスの影響を中心に解析し、A_βのストレス抑制効果を検証した。その結果、細胞外ストレス環境ではA_βとSODが細胞膜上において協同的・補助的に金属ストレスに対応していることを明らかにした。第4章では、前章までの知見を応用した金属リガンド修飾リポソームを設計し、金属の捕捉・ROS消去特性を解析した。その結果、リポソームを用いた金属ストレス制御システム(金属捕捉・ROS完全分解)の構築が可能であることを示した。

論文審査の結果の要旨

金属イオンは生体内において非常に重要な役割を担っているが、生体物質に有害な活性酸素種（ROS）を生成し、酸化ストレスを発生だけでなく、生体物質と結合することで様々な傷害を引き起こし、生体系に対して毒性を示すことがわかっている。生体細胞内においては、比較的強固な金属誘導型ストレス（以下、金属ストレス）応答システムが知られているのに対して、細胞外では知見が限られている。また、近年、タンパク質の構造異常に起因する、Conformational Disease が社会的な問題となりつつある。例えば Alzheimer 病患者の場合、細胞外に切り出された Amyloid β -Peptide ($A\beta$) が、不溶性線維性凝集体を形成し、生体膜に沈着していることが明らかとなっている。この $A\beta$ 凝集体形成が Cu (II) により促進され、Alzheimer 病の発症に関与しているという可能性が示されているが、 $A\beta$ が誘導するポジティブな機能に関する研究、ひいては、 $A\beta$ が関与する金属ストレス消去システムに関する研究は、極めて少ないのが現状である。

本論文では、 $A\beta$ に着目し、膜上における $A\beta$ と金属との相互作用ならびに線維性凝集体形成を評価し、従来の報告に無い $A\beta$ による細胞膜外金属ストレス消去機構について評価・提案している。また、得られた知見に基づいて、リポソームを用いた金属ストレス消去システム（金属捕捉・ROS 完全分解）の開発を試みている。始めに、 $A\beta$ には金属が誘導した ROS 生成を抑制する能力があり、その抑制効果は $A\beta$ が線維性凝集体を形成する条件で最も高いことを明らかにした。また、生体内環境を反映した条件下での $A\beta$ と金属イオンの相互作用を検討するため。メタルアフィニティーリポソーム固定化クロマトグラフィー (MA-ILC) を新規に開発した。以上の結果より、細胞外ストレス環境では $A\beta$ と SOD が細胞膜上において協同的・相補的に金属ストレスに対応していることを明らかにした。前章までの知見に基づいて応用した金属リガンド修飾リポソームを設計し、リポソームを用いた金属ストレス消去システム（金属捕捉・ROS 完全分解）の構築が可能であることを示した。

以上の様に、本論文は(1) $A\beta$ -金属/SOD は生体膜との相互作用により細胞外 ROS 消去機能を誘導すること、(2)新規に開発した MA-ILC を用いて膜上の相互作用を定量的に評価できること、(3)生体 ROS 消去システムに倣ったリポソーム材料が設計開発できることを明らかにした。よって、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。