

Title	Study on Interactive Behaviors of Dopamine with AB on Liposome Membrane under Oxidative Stress Condition
Author(s)	Vu, Thi Huong
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/903">http://hdl.handle.net/11094/903</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

論文内容の要旨

Dopamine (DA) has been reported to play an important role as a neurotransmitter in neuronal system. The lack of DA in neuron is known to induce the dementia symptom although the existence of DA at extremely high level induces the oxidative stress, together with the formation of toxic DA-quinone (DAQ) through the “auto-oxidation” pathway. On the other hand, the deposition of amyloid  $\beta$ -peptides (A $\beta$ s) on the neuronal cell membrane has been reported to be related with the “oxidative stress”. In a biological system, the cells could be protected from the oxidative stress by antioxidative enzymes, such as superoxide dismutase and catalase. However, in some cases, the antioxidative enzymes may lose their functions by the reactive oxygen species (ROS), leading to the loss of their protective function. It is necessary to study the mechanism on the prevention and removal of the toxic species including “oxidative stressors” to recover the cells.

In this thesis, systematic studies have been carried out, mainly focusing on: (i) the interactive behaviors of DA with A $\beta$ s in order to reduce the toxicity of both of them and (ii) the potential function of the membrane against the toxicity induced by DA and A $\beta$ s. Prior to the investigation on the mechanism of the above studies, the methodologies to characterize the DA and A $\beta$ s on the membrane were also developed.

In chapter 1, the DA sensor was developed by using the conducting polymer based on electrochemical method. The developed DA sensor was found to response in the DA concentration with high sensitivity in the range of  $5 \times 10^{-7}$  to  $2 \times 10^{-4}$  M. The DA sensor was then utilized for the evaluation of the interaction of DA with the model cell membrane (liposome). The DA was found to show the propensity to partition onto the liposome membrane. The DA-oxidation was also found to be promoted in the presence of liposomes. Through its partitioning on the liposome membrane, the DA was found to induce the membrane damage, caused by auto-oxidation to form the DAQ together with the generation of superoxide ( $O_2^-$ ).

In chapter 2, the liposome-based sensor was developed by the liposome immobilization onto the surface of the modified QCM electrode in order to evaluate the membrane-protein interaction, focusing on the amyloidogenic proteins (i.e. A $\beta$ s). By using the covalent binding methods, the liposomes were shown to be immobilized with “intact” shape and high density for long time. The immobilized liposomes were applied to evaluate: (i) the interaction between liposomes and A $\beta$ s in term of hydrogen bond stability of proteins ( $\rho_{pp}$ ) and (ii) the DA-A $\beta$  interaction on the liposome membrane. It was found that the liposome membrane could modulate its interaction with A $\beta$ s, depending on its surface characteristics under the stress conditions, and the DA could reduce the interaction of A $\beta$  with liposome membrane.

In chapter 3, the A $\beta$ /Cu complex on the liposome (A $\beta$ /Cu LIPOzyme) was found to be utilized for the regulation of the DA-oxidation as an enzyme-like pathway, instead of the auto-oxidation pathway. The DA was oxidized by A $\beta$ /Cu on the liposome, resulting in the formation of a DAQ together with the formation of less toxic ROS (hydrogen peroxide). It has been shown that the membrane could regulate both the DA concentration and the ROS generation by the control of the enzyme-like activity of A $\beta$ /Cu complex.

In chapter 4, the effect of DA against amyloid  $\beta$ -peptide on the liposome membranes under stress condition was investigated, focusing on (i) the inhibition of fibril formation on the liposome membrane and (ii) the disaggregation of A $\beta$  fibril on the oxidized liposome membrane. The DA showed the ability to reduce the toxicity from A $\beta$  fibril both by the inhibition of fibril formation and the fibril disaggregation. Inversely, A $\beta$  may have the effect to deactivate the toxic DAQ. Finally, the function of biomembrane to defend itself from toxicity under the oxidative stress were summarized and discussed. In brief, the membrane could modulate the DA concentration by regulating the enzyme-like activity of A $\beta$ /Cu complex or by regulating the DA-A $\beta$  interaction. The membrane also possesses the ability to regulate the A $\beta$  fibril level either by promoting A $\beta$  fibril formation or disaggregation of A $\beta$  fibrils. When the membrane was exposed to the oxidative stress conditions, the oxidized membrane can make responses against the stress (a) by accelerating the formation of less toxic A $\beta$  fibrils and (b) by promoting the disaggregation of A $\beta$  fibrils to reduce the toxicity level of both of DAQ and aggregated A $\beta$ .

The obtained results demonstrate that the potential function of membrane on the regulation of stress induced by neurotransmitter dopamine and A $\beta$  in order to protect membrane from stress and recover itself.

論文審査の結果の要旨

ドーパミン(DA)は神経系において神経伝達物質として重要な役割を担っている。DAは高濃度で存在すると、“自動酸化”経路を介して毒性のあるDAキノンの生成を伴い、酸化ストレスを誘導する。一方、アミロイド $\beta$ ペプチド(A $\beta$ )の神経細胞上への沈着と“酸化ストレス”との関連性が報告されている。活性酸素種(ROS)により抗酸化酵素がその機

[158]

氏名	VU THI HUONG		
博士の専攻分野の名称	博士(工学)		
学位記番号	第 23876 号		
学位授与年月日	平成22年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物質創成専攻		
学位論文名	Study on Interactiv Behaviors of Dopamine with A $\beta$ on Liposome Membrane under Oxidative Stress Condition (酸化ストレス条件下におけるリポソーム膜上でのドーパミンとA $\beta$ のインタラクティブな挙動に関する研究)		
論文審査委員	(主査) 教授 田谷 正仁 (副査) 教授 實川浩一郎 教授 平井 隆之 名誉教授 久保井亮一 准教授 馬越 大		

能を消失する事があり、ひいては細胞防御機能も失う。それゆえ、毒性物質の除去や細胞の回復に関する機構の研究が必要である。本学位論文では、DAとAβの毒性を低減させるための両者のインタラクティブな挙動に着目し、DAとAβによって誘導される毒性に対する生体膜の潜在的な防御機構について検討された。

1章では、導電性高分子を用いた化学センサを開発し、DAがモデル細胞膜(リボソーム)に配向する性質を有する事が示された。膜配向したDAは、スーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)の生成に伴う自動酸化を促進し、膜損傷を誘導する事も示されている。2章では、水晶振動子電極の表面へのリボソームのintact 固定化法が検討され、リボソーム固定化センサが開発された。これを用いて、膜-タンパク質(特にAβなどのアミロイド毒性タンパク質)間相互作用やリボソーム膜上におけるDA-Aβ間相互作用が定量的に評価されている。3章では、Aβ/Cu-LIPOzyme(酵素様機能を有するリボソーム)が、自動酸化経路の代替経路として、DA濃度と副生成物ROSの種類を調節する事が示された。4章では、酸化ストレス条件下におけるリボソーム膜上のAβとDAのインタラクティブな挙動が検討された。DAは線維形成阻害および線維可溶化によりAβ線維の毒性を低減させる効果を有する。逆に、Aβは毒性のあるDAキノンの不活性化の効果を有する。上記の知見に基づいて、酸化ストレス条件下における細胞毒性に対する生体膜の防御機能が総括されている。非酸化条件では、膜の水素結合安定性の低下に伴って、Aβの膜への吸着が促進され、Aβ線維形成を加速させるので細胞毒性も増大する。一方、Aβ/Cu錯体による酸化酵素様機能(DAキノン生成)も促進されるので、DAキノンによるAβ線維の可溶化過程ならびに毒性のあるDAキノンの除去過程が膜の水素結合の不安定性に依存して促進され、細胞毒性が調節される。また、酸化劣化膜では、毒性の低く可溶化されやすいAβ線維が形成される。これらの過程の制御が細胞毒性に対する生体膜の防御機能を担う可能性が示された。

以上の様に、本学位論文では、新規に開発したセンサ技術を用いて一連の現象を定量的に評価し、生体膜をストレスから防御して回復させるために、生体膜は、神経伝達物質であるドーパミンとAβによって誘導されるストレスを調節するための潜在的機能を誘導する事が示された。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。