

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： アミロイド形成の分子機構解明と阻害剤・診断法

2. 研究代表者： 三原 久和（東京工業大学 大学院生命理工学研究科 助教授）

3. 研究概要：

狂牛病やヤコブ病などのプリオン病や老人性アルツハイマー病などのアミロイド性疾患が、社会問題化している。アミロイド病に共通する原因は、各病気に関連したタンパク質の立体構造が変化し、自己集合化して生成するアミロイド線維とよばれるタンパク質自己組織体である。

アミロイド病は、このように分子メカニズムが非常に複雑であるが、これを解き明かす研究を通じて、分子根本原理に基づく治療(阻害)薬の開発や安全な診断法(薬)の開発というオリジナルかつ高インパクトな成果が達成される。そこでSORSTでは、さきがけ研究21において獲得した成果に基づき、タンパク質のアミロイド形成の分子機構解明と阻害剤および診断法開発に関する以下の発展研究を実施してきた。

① 相同的配列認識によるアミロイド線維形成の機構解析

さきがけ研究において世界に先駆けて開発した人工のアミロイド性ペプチドを用いる研究から、アミロイド化は、相同的な配列が認識され集合化、線維化し、また相同的配列をもち、溶解性の高い配列が阻害剤となるタンパク質の自己組織化機構によるものであることを発見した。

② アミロイド線維増幅・診断システムの開発

この相同性配列認識・阻害機構に基づき、アルツハイマー病の β アミロイドペプチド(A β)を認識し、アミロイド線維化を増幅させる新規のシステムの構築に成功した(特許出願)。これは相同的な配列を認識する人工の短鎖ペプチドを種々設計し、A β の線維核を検出容易な濃度まで増幅させるシステムである。微量なA β を増幅し、検出しやすいレベルにすることで新規の診断法開発につながる。

③ アミロイド線維化を阻害するRNAシステムの開発

さらに細胞システムでの阻害および検出・診断系の構築を目指して、アミロイド線維を特異的に認識するRNAアプタマーの開発にも着手した。アルツハイマー病の β アミロイドペプチド(A β)の線維になっていないモノマーペプチドを特異的に認識するRNAアプタマーを試験管内進化法(セレックス法)により、世界に先駆けて獲得することに成功した(出願準備中)。またそれらのRNAアプタマーの内、いくつかが強くA β のアミロイド線維化を阻害することを蛍光法および電子顕微鏡観察により明らかにした。これは細胞内でDNAから発現させたRNAによりアミロイド前駆体を捕捉し、アミロイドの線維化を阻害する薬剤の設計に有効である。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

- ・発表論文 6件
- ・その他著作、レビュー 6件
- ・口頭発表 17件
- ・特許出願 国内 2件・外国 1件

本研究は、さきがけ研究21で行ったアミロイド線維の自己組織化の解明に関する基礎研究を基に、アミロイド病(アルツハイマー病、プリオン病など)に対する分子基本原理に基づく治療薬の開発や安全な診断法の開発など、社会的な高インパクトな研究への発展を目指したものである。

(1)アミロイド性ペプチド類の構造転移と線維化機構に関して相同性認識機構を明らかにした。(2)本機構に基づき人工ペプチドによるアミロイド線維の阻害・増幅作用を検討し、塩基性設計短鎖ペプチドによる容量依存的アミロイドの構造転移および線維形成阻害作用を見出した。さらに、アルツハイマー病の β アミロイドペプチド(A β)を認識し、アミロイド線維化を増幅させる新規のシステムの構築に成功し、簡易診断法の基盤を創った。(3)さらに、研究をアルツハイマーA β に結合するアミロイド認識RNAアプタマーを獲得し、それらの結合特異性を評価したのちアミロイド線維形成に与える影響を透過型電子顕微鏡により観察し、強い結合を示したアプタマーがアミロイド線維形成を顕著に抑制することを見出した。これらは個人型研究として非常に独創的かつ質の高い成果であると評価できる。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

近年ますます増え続けるアルツハイマー病は、アミロイドタンパク質の線維化が主原因であることが判明して以来、病理学的研究に加えて分子論的研究の重要性が増大し、欧米では本件に携わっている多くの研究者がいるが、国内では極めて少数である。またアミロイドタンパク質の性質を根本原理から究明しようとする研究者は国内には三原の他にいない。本研究で得られた成果の実際の治療薬や診断薬への応用には *in vivo* 科学の展開というまだまだ高いハードルを残しているが、本研究は個人研究として遂行可能なシーズ化合物の創製および作用に関する分子機構(機能に対する合理的説明)の両観点から大変優れた研究であり、世界的にも類を見ない先駆的なものである。それ故本研究は国際会議の招待講演にもなり国際的にも高く評価されている。

4-3. 特記事項

(1)アミロイドなどペプチド・タンパク質の組織化に関するギリシャでの国際会議 Third Multidisciplinary Workshop on Self-assembly of Peptides and Proteins in Biology, Medicine, Nanomaterials & Engineering (2003.8) において招待講演を行った。

(2)2003年12月には三原らの主導による国際会議 First International Symp. on Biomolecular Chemistry を開催し、シンガポール国立大学 Shao Q.Yao 助教授とソウル国立大学 Yoon-Sik Lee 教授を招聘し、共同研究により診断法のためのマイクロチップ化など実用化をめざす研究の発展

を計画・実施している。

今後も層の厚い欧米に後塵を拝さないためにも、分子論的研究を推進する必要がある。