

論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第 596 号 氏名 中野 博人

学位請求論文

題 名 Inactivation of seeding activity of amyloid β -protein aggregates in vitro
掲載雑誌名 Journal of Neurochemistry 第 160 巻第 4 号 499 頁~516 頁
令和 4 年 2 月掲載

本研究では、オートクレーブ処理または γ 線照射後の $A\beta$ 凝集体の凝集能（シーディング活性）をチオフラビン T (thioflavin T: ThT) 分析及び高速原子間力顕微鏡 (high-speed atomic force microscopy: HS-AFM) を用いて観察し、各処理法の $A\beta$ の凝集過程へ影響を解析した。また、同処理後の $A\beta$ 凝集体の形態学的特徴を ThT 分析、円二色性 (circular dichroism: CD) スペクトル解析、電子顕微鏡 (electron microscopy: EM) を用いて評価した。

ThT 分析の結果からは、 $A\beta$ 凝集体をオートクレーブ処理するとシーディング活性が低下することが明らかとなった。高温または長時間のオートクレーブ処理であるほど、 $A\beta$ 凝集体のシーディング活性は低下することが明らかとなった。また、オートクレーブ処理時の $A\beta$ 凝集体濃度が低いほど、シーディング活性は低下することも明らかとなった。 $A\beta_{40}$ 凝集体と $A\beta_{42}$ 凝集体を比較した場合、 $A\beta_{42}$ 凝集体の方がシーディング活性を不活化するためにより厳しいオートクレーブ処理条件が必要であることが明らかとなった。HS-AFM を用いて $A\beta$ の凝集過程を観察すると、オートクレーブ処理後の $A\beta$ 凝集体の伸長反応は抑制され、未処理の $A\beta$ 凝集体と比較すると伸長速度は有意に低下することが明らかとなった。

ThT 分析と CD スペクトル解析の結果からは、 $A\beta$ 凝集体をオートクレーブ処理すると β シート構造が減少することが明らかとなった。高温または長時間のオートクレーブ処理であるほど、 $A\beta$ 凝集体が有する β シート構造は減少することも明らかとなった。また、オートクレーブ処理後の $A\beta$ 凝集体と未処理の $A\beta$ 凝集体の形態学的特徴を EM で比較すると線維長に有意差を認め、オートクレーブ処理後の $A\beta$ 凝集体は短く分断されていることが明らかとなった。先行研究では、 $A\beta$ 凝集体を超音波破砕で分断するとシーディング活性は上昇すると報告されている。しかし、本研究の結果では、オートクレーブ処理で分断化された $A\beta$ 凝集体のシーディング活性は低下しており、 $A\beta$ 凝集体が有する β シート構造の減少がシーディング活性低下に関与している可能性が示唆された。一方、 γ 線照射後の $A\beta$ 凝集体は、シーディング活性や形態学的特徴に有意な変化を示さなかった。

本研究では、 $A\beta$ 凝集体をオートクレーブ処理すると β シート構造が減少し、シーディング活性が低下することを明らかにした。本研究の成果は、 $A\beta$ 病理の個人間伝播を不活化する処理法の確立に貢献するものであり、博士の学位に値すると評価された。