

脂質膜へのアミロイドβ凝集に対する非平衡流動効果

SATテクノロジー・ショーケース2021

■ はじめに

アルツハイマー病は、アミロイドβ(Aβ)ペプチドが脳細胞表面へ凝集・蓄積し神経細胞死を誘発する疾患であるが、その凝集機構は未解明な部分が多い。機構解明が困難を極める理由の1つとして、脳内を常に流動する間質液の作用が挙げられる。間質液流動は脳内にAβモノマーを連続的に供給するとともに、流動によりAβの分子内・分子間の構造変化を誘起することでAβの凝集を促進する。一方、Aβを脳外へ排出することで凝集を抑制する作用も有しており、Aβ凝集の促進と抑制という相反する効果が協奏的に駆動する。よって脳内におけるAβの凝集機構を解明するためには、間質液によるAβの凝集促進・抑制効果を両立した非平衡開放系かつ連続的流動条件下における実験的検証が必要不可欠となる。しかし既報では、これらの条件を満たさないシャーレ等による静置閉鎖系や、攪拌を加えた閉鎖攪拌系にて研究が行われており、いずれもAβモノマーの一定供給・排斥が不可能な系であった。さらに、非平衡流動下におけるAβ-細胞膜間の初期凝集観察の研究例はない。そこで本研究では、間質液流動を模倣した非平衡流動実験系を構築し、細胞膜上におけるAβの微視的・巨視的凝集挙動を観察することで、Aβと細胞膜間の相互作用を系統的に解明することを目的とした。

■ 活動内容

1. Aβの巨視的凝集挙動の観察

静置条件下および非平衡流動下においてDOPC膜上のAβの巨視的凝集挙動を蛍光顕微鏡により観察した。その結果、非平衡流動下において、Aβと脂質が混在した30 μm程度の巨視的凝集体の形成が確認された。また、非平衡流動下では10 μm程度の巨視的な膜破壊も観察された。よって、非平衡流動が巨視的凝集体の形成と膜破壊を促進することが明らかとなった。

2. Aβの微視的凝集挙動の観察

Aβのモノマーからオリゴマーに至る凝集過程を解明するために、全反射照明蛍光顕微鏡を用いてAβ単分子の観察が可能な実験系を構築した。蛍光強度の経時変化からAβの単量体・二量体を見出し(図1)、段階的な蛍光退色よりAβの会合数を特定した。単量体の蛍光消滅は脂質膜からの脱離もしくは蛍光退色を示し、二量体の蛍光消滅は段階的な蛍光退色を示している。この結果からAβ 1分子の蛍光強度を特定し、Aβの会合数の定量化に成功

した。この単分子観察技術を用いることで、低分子量のAβの核形成・凝集段階の観察・追跡が可能となった。現在は、脂質膜上でのAβ単分子の拡散挙動を解析することで拡散係数を導出し、非平衡流動がAβ-細胞膜間相互作用に与える影響を分子レベルで追究している。

3. アルツハイマー病の病理学的特徴であるアミロイド斑形成までのAβ凝集機構の提案

1., 2.の結果を踏まえ、間質液流動下におけるアミロイド斑形成までの機構を提案している。具体的には、Aβを脂質が取り囲むことによって形成した水溶性ミセルが間質液流動によるせん断力と流速分布により細胞膜への吸着と脱離を繰り返し、最終的にAβと脂質が混在したアミロイド斑類似の巨視的凝集体を形成する。このAβの吸着・脱離に伴って細胞膜が大きく破壊されると考えられる。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

本研究は山形大学理学部1号館にて実施している。

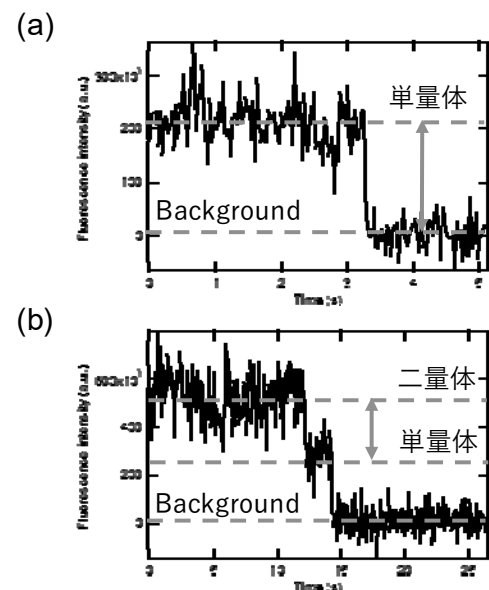


図1. Aβの (a) 単量体, (b) 二量体の蛍光強度の経時変化。

代表発表者
所属
問合せ先

飯田 茜(いいた あかね)
山形大学理工学研究科 理学専攻化学分野
〒990-0021 山形県山形市小白川町1丁目4-12
TEL: 023-628-4589
s191304m@st.yamagata-u.ac.jp

■キーワード: (1) アミロイドβ
(2) 非平衡流動
(3) 脂質二重膜

■共同研究者: 並河 英紀
(山形大学理学部)