

補助事業番号 2023M-319

補助事業名 2023年度アミロイド蛋白質の音波物性分析のための超音波装置の開発補助事業

補助事業者名 中島吉太郎

## 1 研究の概要

アルツハイマー病やパーキンソン病は、特に高齢者に多くみられる神経変性疾患であり、これらの疾患にはアミロイドと呼ばれる蛋白質が異常に凝集した物質が深く関連していることが知られている。このアミロイドを対象として創薬研究や治療法の開発が行われているが、アミロイドが体の中で作られる過程については不明なことが多くあり、薬剤や治療法の確立に向けてこれらを解明することが重要である。アミロイドの研究には、光(レーザー・蛍光など)を用いた分析法が多く用いられており、様々なことを明らかにしてきた。一方で、アミロイドが形成される初期段階に見られる小さな蛋白質の塊を分析する方法は確立されていない。そこで本研究では、光からアプローチを変え、音を用いたアミロイドに対する分析法を確立するために新たな装置を開発した。開発した装置は高周波超音波発生センサを備えており、蛋白質溶液のわずかな変化を音波計測により検知できる可能性がある。また、同時に光を用いた計測も並行して行うことができるシステムを搭載し、アミロイドの形成初期段階に関し、知見を得ることを目指す。これらの研究は、アミロイドを発端とした疾患の研究に取り組む研究者にさらなる分析の手段を与えると同時に、将来的には、これらの疾患の創薬研究や治療法の確立に向けた研究に貢献することができる可能性を秘めている。

## 2 研究の目的と背景

我々の身体の中では、多くの蛋白質が生命活動の維持に貢献している。しかし、これらの蛋白質の中には、老化などの要因によって、特定の臓器などに異常に蓄積し、疾患の発症を引き起こすことが知られている。これらの異常に蓄積した蛋白質の凝集体はアミロイド線維と呼ばれ、現在、様々な研究により、40種類以上の蛋白質が生体内でアミロイド線維を形成し、様々な疾患を引き起こすことが報告されている。これらの疾患の中には、アルツハイマー病やパーキンソン病といった高齢者に多く、治療法が確立されていない難病も含まれている。これらの疾患の創薬研究や治療法の開発現場においては、アミロイド線維をターゲットとした研究戦略が立てられることが多いが、アミロイド線維が生体内で形成される過程について、未解明の事柄が多く残り、これらを解明することによりさらなる創薬研究の加速に貢献することが期待される。

特にアミロイド線維が形成される過程の中において、形成初期過程はオリゴマーと呼ばれる蛋白質が数十個集まった小さな塊が形成されることが知られている。このオリゴマーが高い毒性を示すことや、そのあとに続くアミロイド線維形成に深く関連していることが知られている。しかし、これらのオリゴマーを分析する手法は確立されておらず、さらなる分析法の開発が望まれる。

このような背景を受け、本研究では、アミロイド線維やその形成過程に見られるオリゴマーとい

った凝集体を標的とした新たな分析プラットフォームを構築する。この分析プラットフォームの特徴は、従来用いられる光を基盤とした分析法に音波を用いた分析法を組み合わせることにより、より多くの情報を得て、アミロイド形成過程の理解に役立てようとするものである。本研究では、主に、この装置を開発し、アミロイドの形成過程において、音波を用いてどのような情報を抽出することができるかを検討することを目標とした。

### 3 研究内容

#### (1) 超音波蛍光同時計測システムの開発

超音波・蛍光同時計測システムを設計・製作した(図1)。超音波により蛋白質溶液の音波物性の変化を検出することができる。また、超音波センサを石英セルと組み合わせることにより、対象となる蛋白質溶液内のアミロイド形成を蛍光標識により検出することができる。また蛋白質溶液の温度はペルチェ式加熱・冷却素子と熱電対を用いて制御した。データ取得と解析は、自作した自動計測プログラムを用いて実施可能なシステムを構築した(図2)。

超音波センサの周波数は10 MHz帯の薄膜型超音波センサを採用し、周波数帯に合うパルサー・レシーバーと組み合わせ信号処理を行った。一方、蛍光測定に関しては、回折格子を有する光学系を構築し、アミロイド線維の形成過程を定量することができる蛍光分子を用いた蛍光分光測定と組み合わせること、アミロイド形成過程における音波物性変化を自動計測できるシステムとした。

#### (2) アミロイド蛋白質を用いた実験

モデル実験としてアミロイド線維を形成することが知られているニワトリ卵白リゾチームと呼ばれる蛋白質を用いて実験を行った。実験結果の一例を図3に示す。結果から、従来法の蛍光計測法で変化が検出されるよりも前に急峻な超音波音速の変化が検出された。これは、光を用いた従来法では検出できない変化を音波により計測したことを示唆する結果である。今後は、様々な蛋白質に研究で構築した計測法を適用する計画である。

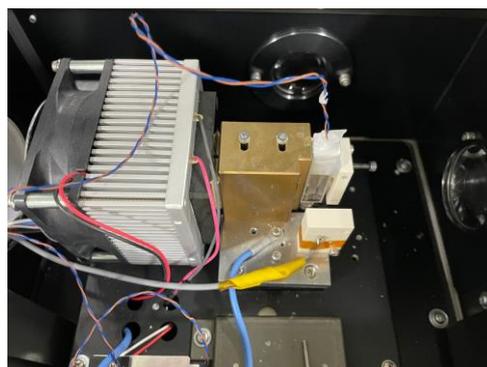


図 1. 構築した実験系

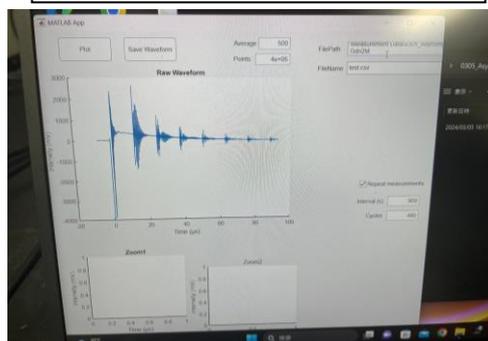


図 2. 自動計測プログラム

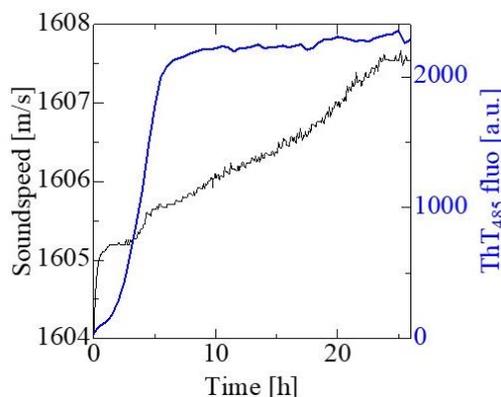


図 3. 超音波音速の変化と蛍光強度の同時計測結果

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究で開発する計測装置は将来的には、アミロイド線維の形成を阻害、または、アミロイド線維を分解する薬剤の開発等において、その詳細なメカニズムを明らかにする研究に貢献できる可能性を秘めている。また、アミロイド線維の研究に取り組む研究者に対して、新たな分析法の機会を提供することができる。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本研究の事業者は、これまでに超音波を用いたアミロイド線維の研究を行ってきたが、この事業をきっかけとして、新たな計測法の研究に取り組む機会を得た。また、本研究を通して得た知見を活かして、以下に示す学術論文一報を指導する大学院生2名と執筆し、米国化学会の神経科学に関連する蛋白質等に関わる専門誌に投稿し、高く評価された。

#### 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

**学術論文:** K. Nakajima, T. Ota, H. Toda, K. Yamaguchi, Y. Goto, and H. Ogi, “Surface Modification of Ultrasonic Cavitation by Surfactants Improves Detection Sensitivity of  $\alpha$ -Synuclein Amyloid Seeds”, *ACS Chem. Neurosci.* **15**, 143–1651 (2024).

#### 7 補助事業に係る成果物

(1) 補助事業により作成したもの

(2) (1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

これらの研究は、公益財団法人JKAの助成を受けて実施した研究です。