

令和 3 年 4 月 7 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03979

研究課題名(和文) アポリポタンパク質の構造異常によるアミロイド線維形成の分子機構解明と制御法の開発

研究課題名(英文) Physicochemical mechanisms of amyloid fibril formation by amyloidogenic apolipoproteins

研究代表者

齋藤 博幸 (Saito, Hiroyuki)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：60300919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、血中や脳内でのコレステロール輸送を制御しているアポリポタンパク質が、遺伝子変異や修飾等によって全身性あるいは脳アミロイドーシス発症を引き起こす分子機構の解明と制御法の開発を目的として、(1)アミロイド線維形成過程の速度論的・熱力学的解析、(2)脂質や糖鎖等の体内因子による線維形成・臓器選択的沈着メカニズムに関する物理化学的解析から、アポリポタンパク質アミロイド形成機構の解明を行った。さらに、(3)アミロイド線維の高感度検出法と形成制御・代謝回転促進技術の開発に向けた新規抗体の開発を行うことで、アミロイドーシス疾患の新たな診断・治療法開発のための科学的基盤の構築を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

“善玉コレステロール”HDLの主要タンパク質であるアポA-Iは、遺伝性変異によって全身性アミロイドーシスを引き起こすことが知られている。本研究では、変異アポA-I分子が生体内で凝集・アミロイド線維化を起こすメカニズムを物理化学的な側面から明らかにするとともに、アポA-Iアミロイド線維構造を特異的に認識する新規抗体の開発に成功した。これら成果は、アポA-Iアミロイドーシスの予防・治療法開発への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have focused on the amyloidogenic apolipoproteins such as apoA-I and apoE that regulate cholesterol metabolism in plasma and brain. We mainly performed the following three projects: (1) kinetic and thermodynamic analyses of aggregation and fibril formation of amyloidogenic apoA-I variants, (2) physicochemical mechanisms of aggregation and fibril formation of amyloidogenic apoA-I variants on lipid membranes, and (3) development of novel monoclonal antibodies against apolipoprotein amyloid fibrils. Our results provide novel and useful insights to understand physicochemical mechanisms of aggregation and fibril formation of amyloidogenic apolipoproteins.

研究分野：生物物理化学

キーワード：アポリポタンパク質 アミロイド線維 アミロイドーシス 遺伝子変異 構造特異抗体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アミロイドーシス(アミロイド病)は、原因となる前駆タンパク質が線維状の構造を持つアミロイドとして神経系や組織に沈着し、細胞・組織・臓器の機能障害を引き起こす病態の総称である。例えば、アルツハイマー病の特徴の一つである老人斑は、アミロイドと呼ばれるアミノ酸約40残基からなるペプチドタンパク質の線維状凝集体であり、また、透析アミロイドーシスでは、長期透析患者の骨関節組織に α_2 -ミクログロブリンに由来するアミロイド線維が沈着し骨関節障害を発症する。このようなタンパク質のアミロイド線維形成は、通常のタンパク質が天然型から構造転換することで起こりうる普遍的な現象であると考えられている。

アポリポタンパク質は、血中や脳内での細胞外コレステロール輸送を制御しているタンパク質群であり、例えば、高密度リポタンパク質(HDL)の構成タンパク質であるアポA-IやアポA-II、アポCは、血漿HDL粒子の産生や成熟などの代謝過程を相互に調節している。ところが、これらのアポリポタンパク質は、その可逆的な脂質結合機能ゆえに不安定で柔軟な高次構造を有しており、変異や酸化などの修飾によってアミロイド線維化を起こしやすい。実際、ヒトアポA-Iでは、家族性アミロイドーシス(アミロイドポリニューロパチーIII型)の原因となる遺伝子変異が20種類近く知られており、多くの場合、N末側約10-kDaフラグメントの臓器沈着が検出されることから、図1のような線維化モデルが提唱されている。

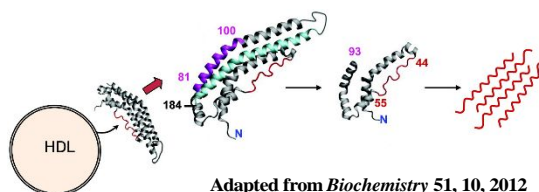


図1. 変異型アポ A-I によるアミロイド線維形成モデル: (a) 変異によって HDL から解離しやすくなったアポ A-I は、(b) 81-100 残基部位の切断を受けて N 末側約 10-kDa フラグメントが生成し、(c) 分子間凝集・アミロイド線維形成に至る。

また、アポC群のなかで、リポタンパク質リパーゼ活性化因子であるアポC-IIが強いアミロイド線維形成性を有することが知られていたが、動脈硬化促進因子として近年注目されているアポC-IIIについても遺伝的アミロイドーシス変異が新たに報告されている。さらに、脳内HDLの主要タンパク質であるアポEは、その遺伝多型(アイソフォーム)がアルツハイマー病発症危険因子として注目され、アミロイドとの相互作用が広く研究されているが、様々なアミロイドタンパク質線維との臓器や組織における共沈着が報告されており、体内環境でのアミロイド沈着促進/抑制因子としても注目される。

一方、これらアポリポタンパク質アミロイドは動脈硬化の形成や進展にも深く関与していると考えられており、アポリポタンパク質によるアミロイド線維形成の分子機序解明は、アミロイドーシスのみならず動脈硬化性疾患やアルツハイマー病などの疾患の予防・治療法開発においても重要な課題である。しかしながら、代表的なアミロイドタンパク質であるアミロイド β や α_2 -ミクログロブリン等と比較して、アポリポタンパク質の遺伝的変異によるアミロイドーシス疾患発症機序に関する研究は世界的にみても非常に遅れており、分子レベルでのメカニズム全容解明が待たれる。

以上の背景から申請者は、これまで進めてきたアポA-Iタンパク質の構造-機能相関に関する研究を基盤としたアポA-Iアミロイド研究に着手し、典型的アミロイドーシス変異であるIowa(G26R)変異が、アポA-Iの組織沈着領域であるN末フラグメントのアミロイド線維化を著しく促進することや、生体脂質膜環境での線維化を調節していることを世界に先駆けて明らかにしてきた。さらに、アポA-Iアミロイド線維による細胞毒性のメカニズムとして、細胞表面へパラン硫酸との相互作用やオートファジー/リソソーム系の関与を見出している。

2. 研究の目的

本研究課題では、アポA-IやアポC-III、アポEなどのアミロイド惹起性アポリポタンパク質をターゲットとし、それらの遺伝的変異や修飾がアミロイドーシス疾患を引き起こす分子メカニズムについて、物理化学的・生化学的・細胞生物学的解析から明らかにすることを目的とした。

具体的戦略としては、アポリポタンパク質アミロイド線維形成過程の速度論的・熱力学的解析とともに、脂質膜環境やグリコサミノグリカン(GAG)糖鎖などの体内因子によるアミロイド線維形成・臓器選択的沈着・毒性発現の分子メカニズムに関する生化学的・細胞生物学的解析から、アポリポタンパク質アミロイドーシス発症の分子論の解明を目指した。さらに、ポリフェノールやトリテルペノイド類などの天然由来化合物を中心とした新規薬物療法候補化合物の探索や、疾患組織部位でのアミロイド線維高感度検出や*in vivo*イメージングへの適用を目指した新規アミロイド抗体の開発などの、新たな診断・治療法開発を指向した研究を展開した。

3. 研究の方法

アミロイド惹起性タンパク質として、Iowa型(G26R)アミロイドーシス変異アポA-IやアポEアイソフォーム及びそれらの変異体、さらにはパーキンソン病原因タンパク質であるシヌク

レインは、遺伝子工学による変異の導入と大腸菌 BL21 (DE3) 株を用いた大量発現系によって作製した。また、線維化領域の同定や局所構造の解析を目的として、システイン残基導入/部位特異的蛍光プローブ標識タンパク質の設計・作製を行った。

アミロイドーシス変異アポ A-I の凝集・線維化反応は、線維結合プローブ Thioflavin T 蛍光の変化を経時的に測定することで追跡し、核形成-自己触媒線維伸長モデルに基づく Finke-Watzky 速度式による解析ならびに核形成・線維伸長速度定数の温度変動解析を行った。また、ホスファチジルコリンに加え、酸性脂質であるホスファチジルセリン (PS) や中性脂質であるスフィンゴミエリン、ホスファチジルエタノールアミン (PE)、コレステロールなどを構成脂質とする人工脂質膜を共存させることで、生体膜環境でのアポ A-I の凝集・線維化反応の変化を調査した。

さらに、マウス過免疫・B 細胞ハイブリドーマ法によってアポ A-I アミロイド線維構造特異抗体を作製し、アポ A-I 及び β -シヌクレイン線維に対する ELISA 評価系を構築した。

4. 研究成果

(1) アミロイドーシス変異アポ A-I の凝集・線維化機構の速度論的・熱力学的解析

Iowa 変異型アポ A-I の凝集・線維化過程における Thioflavin T 蛍光の経時変化から、核形成-自己触媒線維伸長モデルに基づいた Finke-Watzky 式の適用による速度論的解析、並びに核形成及び線維伸長の各過程に対する熱力学的解析を行った。その結果、アポ A-I の核形成過程はエンタルピー的に不利である一方、エントロピー的には有利な反応であるが、線維伸長過程はエンタルピー的にもエントロピー的にも不利な反応であることが示された。さらに、欠損変異体を用いた解析から、凝集傾向の高い 50-58 残基がアポ A-I の核形成をエントロピー駆動的に促進する領域であることが明らかとなった。(図 2: 発表論文 9)

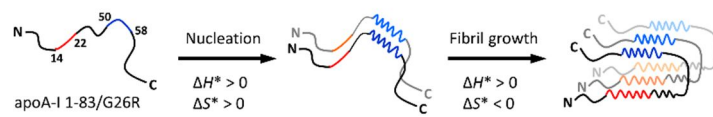


図 2. Iowa(G26R)変異アポ A-I による凝集・線維化過程の熱力学的特性。凝集傾向の高い 50-58 残基領域がアポ A-I の核形成をエントロピー駆動的に促進している。

また、Iowa 変異型アポ A-I が形成するアミロイド線維の詳細構造解明を目的として、N 末側、中央部及び C 末側の各領域にシステイン残基を導入し、蛍光プローブであるピレンで部位特異的に標識した変異体を作製した。線維形成前後でのピレン excimer 蛍光の解析から、アポ A-I アミロイド線維は N 末端領域と C 末端領域を除いた中央部領域が凝集することにより形成され、特に 14-22 残基と 50-58 残基を含む 2 ヶ所の凝集傾向の高い領域が線維構造の核を形成していることを世界で初めて明らかにした(発表論文 9)。

以上のようなアポ A-I アミロイド線維形成過程に関する熱力学的解析並びに線維詳細構造に関する情報は世界で初めてであり、アポ A-I アミロイド形成機構解明の物理化学的基盤となる重要な知見を与えた。

(2) アミロイドーシス変異アポ A-I の脂質膜環境での凝集・線維化機構の解明

酸性リン脂質である PS 及び生体膜の主構成成分であるコレステロールが Iowa(G26R) 変異型アポ A-I のアミロイド線維形成に及ぼす影響を調査した。その結果、PS がアポ A-I の線維形成を強く抑制する一方、コレステロールは線維化における核形成過程を促進することが明らかとなった。そこで、PS による線維化抑制の分子メカニズムを明らかにする目的で、円偏光二色性測定による脂質膜上での二次構造変化の観測や部位特異的蛍光標識による局所環境変化の検出、さらには等温滴定型熱量測定による脂質膜結合熱力学パラメータの比較等を行ったところ、ホスファチジルセリン頭部の負電荷がアポ A-I 分子の G26R 変異を含む線維化領域と静電的に相互作用することにより、脂質膜上でのアポ A-I の α ヘリックス構造を安定化することで β 構造転移・線維形成を抑制していることが示された(発表論文 14)。

さらに、中性リン脂質である PE やスフィンゴミエリンの影響を調査したところ、PE は脂質膜上でのアポ A-I の線維形成領域に対してより疎水的な環境を提供することで線維核の形成を促進する一方、スフィンゴミエリンはアポ A-I の線維形成に影響を及ぼさないことが明らかとなった(発表論文 6)。

以上、酸性脂質や中性脂質などの様々な脂質膜組成に依存してアポ A-I のアミロイド線維形成挙動が変化することが明らかとなった。アポ A-I アミロイドーシスでは、変異の種類によりアミロイド線維が沈着する臓器や組織が異なることが知られている。本研究成果は、アポリポタンパク質アミロイド線維の臓器選択的沈着メカニズムの解明につながる重要な知見となった。

(3) アポ A-I アミロイド線維構造特異抗体の開発

アポリポタンパク質構造異常に関連する病態解明や新たな疾患バイオマーカーの開発を目的として、アポリポタンパク質構造特異抗体の新規開発を行った。アポ A-I アミロイド線維で免役したマウス由来ハイブリドーマ細胞のスクリーニングから、アポ A-I アミロイド線維を特異的に認識する 4

種の構造特異モノクローナル抗体を得た。得られたモノクローナル抗体の種々のアミロイド線維に対する反応特性を解析したところ、パーキンソン病原因タンパク質である シヌクレイン線維に対しても反応性を示したことから、アミロイド線維全般に共通の構造を認識していることが示唆された（図3：発表論文1）

さらに、培養細胞や疾患組織部位でのアミロイド線維高感度検出を目的とした高感度イムノアッセイ系の構築や、バイオイメージングへ適用可能な蛍光タンパク質融合一本鎖 Fv フラグメントの作製を進めた。今後、in vivo イメージングへの適用やアポ A-I アミロイドーシス疾患に対する早期診断法への応用などが期待される。

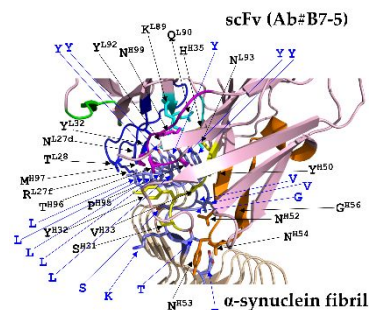


図3. アミロイド線維構造特異抗体と シヌクレイン線維とのドッキングモデル

(4) アポ E によるアミロイド線維形成促進/抑制メカニズムの解明

脳内 HDL の主要タンパク質であるアポ E は、その遺伝多型 (アイソフォーム) がアルツハイマー病発症危険因子として注目され、アミロイド との相互作用が広く研究されているが、様々なアミロイドタンパク質線維との臓器や組織における共沈着が報告されており、体内環境でのアミロイド沈着促進/抑制因子として注目される。そこで、アポ A-I アミロイド形成におけるアポ E の効果を検証した結果、アポ E3 はアポ A-I 分子と直接相互作用することでアポ A-I アミロイドの核形成を促進する一方、その線維伸長を阻害することを初めて明らかにした。これは、近年報告されたアミロイド の凝集・線維形成過程に対するアポ E の効果と一致する結果であり、アポ E がアルツハイマー病のみならず全身性アミロイドーシスにおけるアミロイドタンパク質の凝集・沈着にも関与していることを示唆する。

さらに、野生型であるアポ E3 と比べてアルツハイマー病発症危険因子であるアポ E4 アイソフォームでは、アポ A-I や シヌクレインのアミロイド線維化を低濃度で強く促進することが明らかになりつつある。今後、アポ E4 アイソフォームによるアルツハイマー病やシヌクレインパチー発症の分子機構解明につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ohgita Takashi, Furutani Yuki, Nakano Miyu, Hattori Megumi, Suzuki Ayane, Nakagawa Miho, Naniwa Sera, Morita Izumi, Oyama Hiroyuki, Nishitsuji Kazuchika, Kobayashi Norihiro, Saito Hiroyuki	4. 巻 288
2. 論文標題 Novel conformation selective monoclonal antibodies against apoA I amyloid fibrils	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 1496 ~ 1513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15487	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mizuguchi Chiharu, Ohgita Takashi, Saito Hiroyuki	4. 巻 46
2. 論文標題 Mechanisms of Aggregation and Amyloid Fibril Formation of Apolipoproteins on Lipid Membranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 MEMBRANE	6. 最初と最後の頁 25 ~ 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.46.25	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwahashi Naoyuki, Ikezaki Midori, Nishikawa Taro, Namba Norihiro, Ohgita Takashi, Saito Hiroyuki, Ihara Yoshito, Shimanouchi Toshinori, Ino Kazuhiko, Uchimura Kenji, Nishitsuji Kazuchika	4. 巻 117
2. 論文標題 Sulfated glycosaminoglycans mediate prion-like behavior of p53 aggregates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 33225 ~ 33234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2009931117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 4.Trusova V., Vus K., Zhytniakivska O, Tarabara U., Saito H., Gorbenko G.	4. 巻 2
2. 論文標題 Nanomechanical Characterization of Apolipoprotein A-I Amyloid Fibrils	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 East Eur. J. Phys.	6. 最初と最後の頁 118-123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26565/2312-4334-2020-2-11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohgita Takashi, Takechi-Haraya Yuki, Okada Keisuke, Matsui Saki, Takeuchi Misaki, Saito Chihiro, Nishitsuji Kazuchika, Uchimura Kenji, Kawano Ryuji, Hasegawa Koki, Sakai-Kato Kumiko, Akaji Kenichi, Izutsu Ken-ichi, Saito Hiroyuki	4. 巻 1862
2. 論文標題 Enhancement of direct membrane penetration of arginine-rich peptides by polyproline II helix structure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183403 ~ 183403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2020.183403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizuguchi C., Nakagawa M., Namba N., Sakai M., Kurimitsu N., Suzuki A., Fujita K., Horiuchi S., Baba T., Ohgita T., Nishitsuji K., and Saito H.	4. 巻 294
2. 論文標題 Mechanisms of Aggregation and Fibril Formation of the Amyloidogenic N-terminal Fragment of Apolipoprotein A-I	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 13515-13524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008000	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gorbenko G., Trusova V., Gadjev N., Deligeorgiev T., Mizuguchi C., and Saito H.	4. 巻 294
2. 論文標題 Two-step FRET as a tool for probing the amyloid state of proteins.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Mol. Liquids	6. 最初と最後の頁 111675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molliq.2019.111675	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakai-Kato K., Yoshida K., Ohgita T., Takechi-Haraya Y., Demizu Y., and Saito H.	4. 巻 35
2. 論文標題 Refining calibration procedures of circular dichroism spectrometer to improve usability.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 1275-1278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.19N022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurimitsu Naoko, Mizuguchi Chiharu, Fujita Kaho, Taguchi Suzuno, Ohgita Takashi, Nishitsuji Kazuchika, Shimanouchi Toshinori, Saito Hiroyuki	4. 巻 594
2. 論文標題 Phosphatidylethanolamine accelerates aggregation of the amyloidogenic N terminal fragment of apoA I	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1443 ~ 1452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohgita T. and Saito H.	4. 巻 67
2. 論文標題 Biophysical mechanism of protein export by bacterial type III secretion system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 341-344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c18-00947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mizuguchi Chiharu, Nakamura Mitsuki, Kurimitsu Naoko, Ohgita Takashi, Nishitsuji Kazuchika, Baba Teruhiko, Shigenaga Akira, Shimanouchi Toshinori, Okuhira Keiichiro, Otaka Akira, Saito Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Effect of Phosphatidylserine and Cholesterol on Membrane-mediated Fibril Formation by the N-terminal Amyloidogenic Fragment of Apolipoprotein A-I	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23920-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gorbenko Galyna P., Trusova Valeriya, Mizuguchi Chiharu, Saito Hiroyuki	4. 巻 28
2. 論文標題 Lipid Bilayer Interactions of Amyloidogenic N-Terminal Fragment of Apolipoprotein A-I Probed by F?rster Resonance Energy Transfer and Molecular Dynamics Simulations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Fluorescence	6. 最初と最後の頁 1037 ~ 1047
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10895-018-2267-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Takechi-Haraya Yuki, Saito Hiroyuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Current Understanding of Physicochemical Mechanisms for Cell Membrane Penetration of Arginine-rich Cell Penetrating Peptides: Role of Glycosaminoglycan Interactions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Protein & Peptide Science	6. 最初と最後の頁 623 ~ 630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1389203719666180112100747	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kameyama Hirokazu, Uchimura Kenji, Yamashita Taro, Kuwabara Kaori, Mizuguchi Mineyuki, Hung Shang-Cheng, Okuhira Keiichiro, Masuda Tomohiro, Kosugi Tomoki, Ohgita Takashi, Saito Hiroyuki, Ando Yukio, Nishitsuji Kazuchika	4. 巻 189
2. 論文標題 The Accumulation of Heparan Sulfate S-Domains in Kidney Transthyretin Deposits Accelerates Fibril Formation and Promotes Cytotoxicity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 308 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2018.09.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohgita Takashi, Takechi-Haraya Yuki, Nadai Ryo, Kotani Mana, Tamura Yuki, Nishikiori Karin, Nishitsuji Kazuchika, Uchimura Kenji, Hasegawa Koki, Sakai-Kato Kumiko, Akaji Kenichi, Saito Hiroyuki	4. 巻 1861
2. 論文標題 A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan binding region of human apolipoprotein E	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 541 ~ 549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2018.12.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Okuhira Keiichiro, Shoda Takuji, Omura Risa, Ohoka Nobumichi, Hattori Takayuki, Shibata Norihito, Demizu Yosuke, Sugihara Ryo, Ichino Asato, Kawahara Haruka, Itoh Yukihiro, Ishikawa Minoru, Hashimoto Yuichi, Kurihara Masaaki, Itoh Susumu, Saito Hiroyuki, Naito Mikihiro	4. 巻 91
2. 論文標題 Targeted Degradation of Proteins Localized in Subcellular Compartments by Hybrid Small Molecules	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 159 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/mol.116.105569	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takechi-Haraya Yuki, Aki Kenzo, Tohyama Yumi, Harano Yuichi, Kawakami Toru, Saito Hiroyuki, Okamura Emiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Glycosaminoglycan Binding and Non-Endocytic Membrane Translocation of Cell-Permeable Octaarginine Monitored by Real-Time In-Cell NMR Spectroscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 42～42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph10020042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Hitoshi, Mikawa Shiho, Mizuguchi Chiharu, Horie Yuki, Morita Izumi, Oyama Hiroyuki, Ohgita Takashi, Nishitsuji Kazuchika, Takeuchi Atsuko, Lund-Katz Sissel, Akaji Kenichi, Kobayashi Norihiro, Saito Hiroyuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Immunochemical Approach for Monitoring of Structural Transition of ApoA-I upon HDL Formation Using Novel Monoclonal Antibodies	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 2988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-03208-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Vus Kateryna, Girykh Mykhailo, Trusova Valeriya, Gorbenko Galyna, Kinnunen Paavo, Mizuguchi Chiharu, Saito Hiroyuki	4. 巻 688
2. 論文標題 Fluorescence study of the effect of the oxidized phospholipids on amyloid fibril formation by the apolipoprotein A-I N-terminal fragment	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chem. Phys. Lett.	6. 最初と最後の頁 1～6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2017.09.037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計47件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 中野未悠、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸
2. 発表標題 新規抗アポA-I アミロイド抗体は配列非依存的に線維構造を認識する
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南波憲宏、河野弘樹、扇田隆司、島内寿徳、斎藤博幸
2. 発表標題 -シヌクレインのアミロイド凝集・線維化反応の熱力学的特性 - ApoA-Iとの比較
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 扇田隆司、南波憲宏、河野弘樹、島内寿徳、斎藤博幸
2. 発表標題 パーキンソン病変異又はC末欠損による シヌクレインアミロイド凝集促進機構
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ohgita T., Mamba N., Kono H., Saito H.
2. 発表標題 Effects of Parkinson's Disease-Related Familial Mutation and C-terminal Truncation on Nucleation and Fibril Elongation of α -Synuclein
3. 学会等名 Biophysical Society 65th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田舞、島内寿徳、斎藤博幸、木村幸敬
2. 発表標題 トランスサイレチンによるアミロイド凝集に及ぼす脂質膜の影響
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 扇田隆司、原矢佑樹、岡田圭祐、松井早希、竹内美紗紀、齋藤千尋、西辻和親、内村健治、川野竜司、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、伊豆津健一、齋藤博幸
2. 発表標題 ポリプロリンIIヘリックス構造によるアルギニンペプチド細胞膜透過促進機構
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 南波憲宏、扇田隆司、島内寿徳、西辻和親、齋藤博幸
2. 発表標題 がん抑制タンパク質p53のアミロイド線維形成性
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 栗光直子、水口智晴、藤田かほ、田口鈴乃、扇田隆司、島内寿徳、齋藤博幸
2. 発表標題 ホスファチジルエタノールアミンによるIowa変異型アポA-Iの凝集・線維化促進機構
3. 学会等名 日本膜学会第42年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村悠樹、小谷真菜、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸
2. 発表標題 ApoE由来アルギニンペプチドの細胞膜透過における糖鎖依存性の評価
3. 学会等名 日本膜学会第41年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 扇田隆司、中川美穂、坂井美冴、南波憲宏、鈴木彩音、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、斎藤博幸
2. 発表標題 ApoA-I アミロイド線維形成における各構造領域の役割に関する物理化学的解析
3. 学会等名 第7回日本アミロイドーシス研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Taro Yamashita, Kaori Kuwabara, Hirokazu Kameyama, Mineyuki Mizuguchi, Keiichiro Okuhira, Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito, Yukio Ando
2. 発表標題 Heparan sulfate S-domains that accumulate in kidney transthyretin deposits accelerate fibril formation and promote cytotoxicity
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南波憲宏、中川美穂、坂井美冴、鈴木彩音、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 熱力学的解析による IowA変異型ApoA-Iの線維化機構の解明
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野未悠、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 ApoA-I アミロイド形成過程に及ぼすApoEの濃度依存的影響
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中翔子、平松彩羅、原田航吉、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 パーキンソン病原因タンパク質 α -シヌクレインの作製と物性評価
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水口智晴、栗光直子、中川美穂、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型A β 1-42のアミロイド線維形成機構の解明
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Tamura, Mana Kotani, Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji and Hiroyuki Saito
2. 発表標題 A NOVEL AMPHIPATHIC CELL-PENETRATING PEPTIDE BASED ON THE N-TERMINAL GLYCOSAMINOGLYCAN BINDING REGION OF HUMAN APOLIPOPROTEIN E
3. 学会等名 第56回ペプチド討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗光直子、水口智晴、藤田かほ、堀内爽加、扇田隆司、島内寿徳、斎藤博幸
2. 発表標題 ホスファチジルエタノールアミンはIowa変異型A β 1-42の線維化を促進する
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井早希、岡田圭祐、竹内美紗紀、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸
2. 発表標題 ポリプロリン ヘリックス構造によるアルギニンペプチドの細胞膜透過性の亢進
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 南波憲宏、中川美穂、木村美月、坂井美冴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 ApoA-I アミロイドのエントロピー駆動型核形成における線維化領域の寄与
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野未悠、鎌田真央、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 アポA-I線維形成におけるアミロイド共存タンパク質アポEの二相性効果
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mizuguchi C., Ito E., Nakamura M., Ohgita T., Baba T., Shimanouchi T., Okuhira K., Saito H.
2. 発表標題 Effects of Iowa (G26R) mutation on fibril formation by an amyloidogenic N-terminal fragment of apoA-I
3. 学会等名 The XVIth International Symposium on Amyloidosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishitsuji K., Uchimura K., Yamashita T., Kuwabara K., Kameyama H., Mizuguchi M., Okuhira K., Ohgita T., Saito H., Ando Y.
2. 発表標題 Pathological roles of heparan sulfate S-domains in ATTR amyloidosis
3. 学会等名 The XVIth International Symposium on Amyloidosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 扇田隆司、瀬井亮、田村悠樹、小谷真奈、田中翔子、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸
2. 発表標題 アルギニンペプチドの両親媒性が細胞膜透過性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本膜学会第40年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、齋藤博幸
2. 発表標題 ApoA-Iアミロイド構造を特異的に認識する新規モノクローナル抗体の開発
3. 学会等名 第6回日本アミロイドーシス研究会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、齋藤博幸
2. 発表標題 新規モノクローナル抗体を用いたApoA-I高次構造変化の検出
3. 学会等名 第16回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水口智晴、中川美穂、堀内爽加、藤田かほ、扇田隆司、奥平柱一郎、斎藤博幸
2. 発表標題 欠損変異体を用いたアポ A-I アミロイド線維形成過程の解明
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 扇田隆司、古谷優樹、服部恵美、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸
2. 発表標題 ApoA-I アミロイド線維検出のための新規構造特異抗体の開発
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川美穂、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型アポA-Iのアミロイド形成過程における各線維化領域の役割
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗光直子、中村光希、水口智晴、島内寿徳、斎藤博幸
2. 発表標題 アポA-Iアミロイド形成に対するホスファチジルエタノールアミンの影響
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部恵美、中川美穂、原田航吉、古谷優樹、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸
2. 発表標題 抗ApoA-I線維モノクローナル抗体の反応特異性の評価
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水口智晴、栗光直子、扇田隆司、島内寿徳、斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型アポA-Iの脂質膜相互作用・アミロイド線維化に及ぼすリン脂質組成の影響
3. 学会等名 膜シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishitsuji K., Uchimura K., Yamashita T., Kameyama H., Kuwabara K., Mizuguchi M., Hung S.-C., Okuhira K., Ohgita T., Saito H., Ando Y.
2. 発表標題 HS S-domains that accumulate in ATTR amyloidosis patients accelerate and mediate formation and cytotoxicity of transthyretin fibrils
3. 学会等名 Society for Glycobiology Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小谷真菜、田村悠樹、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸
2. 発表標題 ApoE糖鎖結合ドメイン改変型両親媒性アルギニンペプチドの細胞膜透過機構
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂井美冴、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型アポA-Iのアミロイド線維形成過程に関する速度論的・熱力学的解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 錦織花梨、長谷川功紀、原矢佑樹、扇田隆司、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸
2. 発表標題 両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構解明に向けたペプチドの合成
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水口智晴、藤田かほ、堀内爽加、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 部位特異的蛍光標識によるアポA-Iアミロイド線維詳細構造の評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水口智晴、三河志穂、扇田隆司、馬場照彦、島内寿徳、奥平桂一郎、斎藤博幸
2. 発表標題 脂質膜組成によるIowa変異型アポA-Iのアミロイド線維形成性の変化
3. 学会等名 日本膜学会第39年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 亀山泰和、内村健治、山下太郎、水口峰之、坂下直実、斎藤博幸、奥平桂一郎、安東由喜雄、西辻和親
2. 発表標題 ATTRアミロイドーシスにおけるヘパラン硫酸多硫酸化ドメイン (S-ドメイン) の役割の解明
3. 学会等名 第5回日本アミロイドーシス研究会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水口智晴、伊藤恵理子、中村光希、扇田隆司、馬場照彦、島内寿徳、奥平桂一郎、斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型アポA-Iのアミロイド形成はホスファチジルセリンによって抑制される
3. 学会等名 第15回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuki Furutani, Mitsuki Nakamura, Shiho Mikawa, Takashi Ohgita, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito
2. 発表標題 Development of Novel Conformational-specific Monoclonal Antibodies against Amyloid Fibril Form of ApoA-I
3. 学会等名 第11回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Chiharu Mizuguchi, Eriko Ito, Mitsuki Nakamura, Takashi Ohgita, Teruhiko Baba, Toshinori Shimanouchi, Keiichiro Okuhira, Hiroyuki Saito
2. 発表標題 The Iowa mutation enhances fibril formation by an amyloidogenic N-terminal fragment of apoA-I
3. 学会等名 第11回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水口智晴, 伊藤恵理子, 中村光希, 扇田隆司, 馬場照彦, 重永章, 島内寿徳, 奥平桂一郎, 大高章, 斎藤博幸
2. 発表標題 脂質膜組成によるIowa変異型アポA-Iの線維化制御メカニズムの解明
3. 学会等名 膜シンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 亀山泰和, 内村健治, 山下太郎, 水口峰之, 坂下直実, 斎藤博幸, 奥平桂一郎, 安東由喜雄, 西辻和親
2. 発表標題 ATTRアミロイドーシスにおけるヘパラン硫酸多硫酸化ドメインの役割の解明
3. 学会等名 膜シンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水口智晴, 伊藤恵理子, 中村光希, 扇田隆司, 馬場照彦, 島内寿徳, 奥平桂一郎, 斎藤博幸
2. 発表標題 Iowa変異型アポA-Iのアミロイド線維形成に及ぼすホスファチジルセリンとコレステロールの影響
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古谷優樹, 服部恵美, 扇田隆司, 森田いずみ, 大山浩之, 小林典裕, 斎藤博幸
2. 発表標題 新規apoA-I構造特異抗体によるアミロイド線維反応性の評価
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村悠樹、灘井亮、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸
2. 発表標題 新規両親媒性アルギニンペプチドの細胞膜透過性の評価
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村光希、栗光直子、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸
2. 発表標題 アミロイドーシス変異アポA-Iのホスファチジルセリンとの相互作用領域の特定
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小林 典裕 (Kobayashi Norihiro) (90205477)	神戸薬科大学・薬学部・教授 (34512)	
研究分担者	坂下 直実 (Sakashita Naomi) (90284752)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授 (16101)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	赤路 健一 (Akaji Kenichi) (60142296)	京都薬科大学・薬学部・副学長 (34306)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	扇田 隆司 (Ohgita Takashi) (80737263)	京都薬科大学・薬学部・助教 (34306)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ウクライナ	V.N. Karazin Kharkiv National University			
フランス	国立科学研究センター (CNRS)			
米国	University of Pennsylvania			