

令和 6 年 4 月 16 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H00921

研究課題名(和文) アミロイド の毒性オリゴマー特異抗体による超早期のアルツハイマー病診断

研究課題名(英文) Very early diagnosis of Alzheimer's disease by the toxic oligomer specific antibody of amyloid beta

研究代表者

入江 一浩 (Irie, Kazuhiro)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：00168535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 26,700,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病の発症に重要な役割を果たしているアミロイド は、中央部分でターン構造を取ることにより、高い凝集性と細胞毒性を示す。本研究では、この毒性ターン構造を17位および28位間の分子内SS架橋により固定することに成功し、そのペプチドを抗原として立体構造特異抗体(TxCo-1)を開発した。X線共結晶構造解析により、TxCo-1は毒性ターン構造を認識する初めての抗体であることが判明した。TxCo-1は、AD患者脳の老人斑を強く染色し、その染色像はN末端抗体とは異なっていた。また、顕著な細胞毒性を示す2および3量体モデルも設計し、毒性を示すために最適なリンカー構造と架橋位置を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究代表者は、42残基のアミロイド (A<sub>42</sub>)に関する毒性配座理論(A<sub>42</sub>の22, 23位でのターン形成によってTyr-10のフェノキシラジカルがMet-35の硫黄ラジカルを効率よく生成させ、それがC末端のカルボキシアニオンによって安定化されることにより疎水性コアを形成して凝集核となる)を提唱してきた。本研究では、この毒性ターン構造を野生型の配列で固定することにより、より生理的条件下に近い毒性オリゴマー構造を再現することに成功した。今回開発したTxCo-1抗体は、毒性オリゴマーに特徴的な配座を認識することから、超早期のアルツハイマー病の診断や治療薬シーズになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Amyloid- (A<sub>42</sub>), which plays an important role in the onset of Alzheimer's disease, exhibits high aggregative ability and cytotoxicity by adopting a turn structure in the central region (positions 22 and 23). In this study, we successfully fixed this toxic turn structure through an intramolecular disulfide crosslink between positions 17 and 28, and developed a conformation-specific antibody (TxCo-1) using this peptide as an antigen. X-ray co-crystal structure analysis revealed that TxCo-1 is the first antibody that recognizes the toxic turn structure. TxCo-1 strongly stained senile plaques in the brains of AD patients, and the staining pattern was significantly different from that of existing N-terminal antibodies. In addition, we also synthesized new dimeric and trimeric A<sub>42</sub> models that exhibited significant cytotoxicity, and were able to clarify the optimal linker structure, crosslink position, and crosslink length to exhibit cytotoxicity.

研究分野：生物有機化学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイド 抗毒性ターン特異抗体 毒性オリゴマー 分子内ジスルフィド架橋

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は最も患者数の多い神経変性疾患であり、高齢化に伴って患者数は増加の一途を辿っている。AD は、40 代から始まるアミロイド  $\beta$  タンパク質 ( $A\beta$ ) の蓄積 (老人斑の形成)、タウタンパク質のリン酸化 (神経原線維変化)、神経細胞の脱落の順序で進行するとされる (図 1)。近年、 $A\beta$  の毒性本体は高分子量の凝集体 (老人斑) ではなく、準安定なオリゴマーであることが指摘されている (Roychaudhuri, R. *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 4749)。したがって、AD の早期診断薬や治療薬を開発するためには、毒性を示す  $A\beta$  オリゴマーの立体構造を明らかにし、それらに対する抗体などの薬剤を合理的に設計する必要がある。

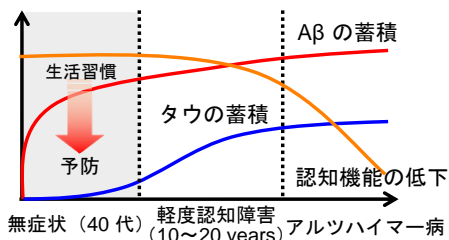


図 1 AD の病理学的特徴と年齢との相関。

抗  $A\beta$  抗体は、AD モデルマウス等において  $A\beta$  凝集体をほぼ完全に消失させることから、抗体医薬としての開発が、Schenk らの報告 (Schenk, D. *et al.*, *Nature* **1999**, 400, 173) 以降世界中で鎬を削って行われた。しかしながら 2010 年代になって、メガファーマが抗  $A\beta$  抗体医薬の開発から相次いで撤退している。その理由は  $A\beta$  が治療標的にならないということではなく、 $A\beta$  の毒性オリゴマーの形成は 40 代から始まっており、AD が発症する 70 代以降での治療が困難であることを意味している。すなわち、超早期の診断法の確立と食品等の生活習慣による予防が、最も現実的な AD への対応の一つとして考えられている。

本研究代表者は、毒性の高い 42 残基の  $A\beta$  ( $A\beta_{42}$ ) の系統的なプロリン置換法、電子スピン共鳴 (ESR) 法、固体の核磁気共鳴 (NMR) 法などを駆使して、「 $A\beta_{42}$  の Glu22 および Asp23 付近でのターン (毒性ターン) 形成が引き金となり、Met35 の酸化を経て毒性オリゴマーを形成する」という毒性配座理論を提唱した (図 2 左: 2019 年度日本農芸化学会賞受賞総説, Irie, K., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2020**, 84, 1)。次に、この毒性ターンを模倣したプロリン置換ペプチド (E22P- $A\beta_{9-35}$ ) を抗原として、マウスに免疫することにより、抗毒性オリゴマー特異抗体 (24B3) の作製に成功した (図 2 右)。本抗体と市販の N 末端抗体 (82E1) を用いたサンドイッチ ELISA が、ヒト脳脊髄液を用いた AD 診断に応用可能であることを示した (Murakami, K. *et al.*, *Sci. Rep.* **2016**, 6, 29038)。本研究成果は、新聞、テレビ、京大ホームページで取り上げられた。さらに、正常圧水頭症患者において、 $A\beta_{42}$  に対する毒性オリゴマーの比が、将来 AD を発症するか否かを判断するバイオマーカーになりうることも判明した (Akiba, C. *et al.*, *J. Alzheimers Dis.* **2018**, 63, 989)。しかしながら、24B3 抗体の感度ならびに特異性は改善の余地があり、ヒト脳切片や脳脊髄液中の毒性オリゴマーのどのような立体構造を認識しているのかも不明であった。また、24B3 抗体以外にも  $A\beta$  オリゴマー抗体が複数開発されており (A11, NU1)、これらの中には臨床試験 (Phase II) で有望視されているものもあるが、毒性オリゴマー認識機構は不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、24B3 抗体と抗原ペプチドとの共結晶の X 線構造解析に基づき、 $A\beta_{42}$  の毒性配座固定アナログ並びに毒性 2 および 3 量体モデルを合成し、それらに対する立体構造特異抗体を作製する。最終的には、ヒト血漿による超早期 AD 診断法の確立と、長年の未解決課題である  $A\beta$  の毒性オリゴマーに特徴的な高次構造を明確にすることを旨とするものである。

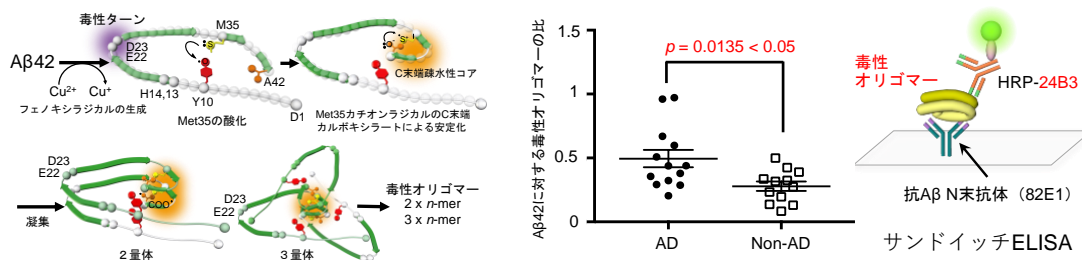


図 2 (左)  $A\beta_{42}$  のラジカル化を介する毒性発現機構。

(右) サンドイッチ ELISA による AD 診断。

### 3. 研究の方法

#### (1) 11A1 および 24B3 抗体とそれぞれの抗原ペプチド複合体の X 線結晶構造解析

24B3 抗体の Fab ドメインと抗原ペプチド誘導体 (E22P-A $\beta$ 10-34) との共結晶を作製し、放射光施設において高分解能 X 線構造解析を行う。コントロールとして、22 位での毒性ターンを直接認識していないと予想される 11A1 抗体 (Murakami, K. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2010**, *1*, 747) についても同様の解析を行う。11A1 抗体は、既製の抗 A $\beta$  抗体とは異なり、AD 病態の初期段階に見られる細胞内 A $\beta$  と強く反応するとともに、AD 脳抽出物中のオリゴマーに結合した。

#### (2) A $\beta$ 42 の分子内ジスルフィド架橋による毒性配座固定アナログの合成と活性評価

24B3 抗体は AD 診断において一定の成功を収めたが、ヒト脳内に存在しないプロリン置換体を抗原として用いている点で改善が望まれる。そこで、野生型 A $\beta$ 42 の Glu22 および Asp23 での毒性ターンを安定化させる目的で、2 箇所をシステイン (C) あるいはホモシステイン (hC) 残基で置換した誘導体を系統的に合成したのち、DMSO 酸化して分子内ジスルフィド結合を形成させる。得られた各種架橋体の SH-SY5Y 細胞に対する毒性ならびにオリゴマー形成能をそれぞれ MTT 試験ならびに Native PAGE を用いた Western blotting 法により調べ、最も毒性の高い配座固定アナログを選抜する。

#### (3) 毒性 2 および 3 量体モデルの設計・合成と活性評価

本研究代表者らは、2 価性のアミノ酸リンカーである L,L-2,6-diaminopimelic acid (DAP) を E22P-A $\beta$ 40 の C 末端領域 (38 位) に導入して得られた 2 量体モデル (E22P,G38DAP-A $\beta$ 40 dimer) が、12-24 量体として安定に存在し、かつ E22P-A $\beta$ 40 単量体に匹敵する細胞毒性を示すことを見いだした。そこで、38 位で様々な長さのリンカー (炭素数 1 から 7 個) で架橋した E22P-A $\beta$ 40 の dimer モデルを系統的に合成する。さらに、以前合成した芳香環を有する 3 価性のアミノ酸リンカー (Irie, Y. *et al.*, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 182) を、柔軟性の高いアルキル鎖に置換したリンカーで架橋した各種 3 量体モデルも合成する。これらのモデル化合物の細胞毒性と凝集性を調べるとともに、イオンモビリティ質量分析法 (IM-MS) によってオリゴマーの分子量を決定する (日本ウォーターズ・廣瀬博士、川瀬氏との共同研究)。さらに、シナプス毒性 [long-term potentiation (長期増強, LTP) の阻害] も測定する (富山大薬・久米教授との共同研究)。

#### (4) A $\beta$ 42 の毒性配座固定アナログに対する立体構造特異抗体の作製

項目 (2) で作成した最も毒性の高い配座固定アナログに対するモノクローナル抗体を作製する。マウスへの免疫は免疫生物研究所 (IBL) が行い (業務委託)、抗体のスクリーニングは細胞毒性を示さない配座固定アナログを陰性対照として実施する。

### 4. 研究成果

#### (1) 11A1 および 24B3 抗体とそれぞれの抗原ペプチド複合体の X 線結晶構造解析

まず、細胞内アミロイド凝集体を高感度で検出できる 11A1 抗体について、抗原ペプチド (E22P-A $\beta$ 10-34) と 11A1 の Fab ドメインとの共結晶の X 線構造解析を行った (Saito, A. *et al.*, *BioRxiv.* **2021**, doi: 10.1101/2021.04.07.438832)。その結果、分子置換法により 1.75Å の分解能で構造が明らかになり、11A1 は A $\beta$  の Tyr10 から His14 までの領域と結合していることが判明した (図 3 左)。これまで、N 末領域を認識する抗体は数種類報告されているが、11A1 と同じ領域に結合する抗体はなかった。この領域は、A $\beta$  オリゴマー中で分子間  $\beta$ -シート構造をとっている Gln15 から Phe20 の領域に隣接しており、毒性オリゴマーのみならず N 末端が様々な長さで切断された A $\beta$  の凝集体も感度よく検出できる抗体であることが明らかになった。

次に、抗毒性ターン抗体である 24B3 抗体の Fab ドメインと抗原ペプチド (E22P-A $\beta$ 11-34) との共結晶の X 線構造解析を行った。その結果、分子置換法により 2.60Å の分解能で構造が明らかになったが、11A1 とは全く異なり、毒性ターンを含む E22P-A $\beta$ 16-26 を認識していることが判明した (Irie, Y. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2022**, *621*, 162)。さらに 24B3 が認識する A $\beta$  のコンホメーションに関する知見を得るため、A $\beta$ 42 の様々な部位で分子内ジスルフィド結合により架橋した誘導体 (以下項目 (2) を参照) を合成し、24B3 に対する EIA を行った。その結果、A $\beta$ 42 のフィブリル構造に特徴的な立体構造を模した F19C,A30hC-SS-A $\beta$ 42 (Matsushima,

Y. *et al.*, *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 4118) に対して選択的に結合することが判明した。これより、A $\beta$ 42 のフィブリルに見られる 22 および 23 位でのターン構造を含む立体構造は、毒性オリゴマー構造の一部を反映しているものと推定される。同時に、24B3 を用いたサンドイッチ ELISA (図 2 右) が、軽度の認知症患者が将来 AD を発症するか否かを判断する上で有効であることも判明し (Futamura, A. *et al.*, *J. Alzheimers Dis.* **2021**, *80*, 639 : 昭和大学プレスリリース, 2021.2.18) , 毒性ターン構造を標的とした抗体が AD の診断薬になりうるという作業仮説が一部実証された。

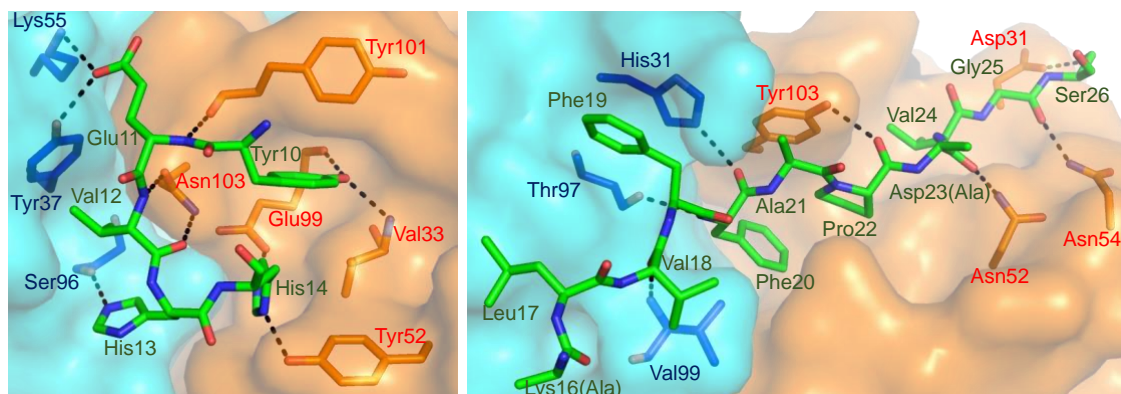


図 3 (左) 11A1 Fab と E22P-A $\beta$ 10-34 との共結晶構造。 (右) 24B3 Fab と E22P-A $\beta$ 11-34 との共結晶構造。  
水色 : Light chain, 茶色 : Heavy chain

### (2) A $\beta$ 42 の分子内ジスルフィド架橋による毒性配座固定アナログの合成と活性評価

A $\beta$ 42 の中央部分のターン構造 (毒性ターン) を安定化させる目的で, Glu22 及び Asp23 からそれぞれ等間隔のアミノ酸残基を, システインあるいはホモシステイン残基で置換した誘導体を系統的に合成したのち, DMSO 酸化して分子内ジスルフィド結合を形成させた。得られた各種架橋体の SH-SY5Y 細胞に対する毒性ならびにオリゴマー形成能を, それぞれ MTT 試験ならびに Native PAGE を用いた Western blotting 法により調べたところ, Leu17 と Lys28 をシステイン残基で置換して分子内架橋した A $\beta$ 42 誘導体 (L17C,K28C-SS-A $\beta$ 42: SS-A $\beta$ 42) が, 最も細胞毒性の高い A $\beta$ 42 誘導体である E22P-A $\beta$ 42 と同程度の毒性を示すとともに, 1  $\mu$ M 以下の低濃度でも安定なオリゴマーを形成することが明らかになった (Kageyama, Y. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2021**, *12*, 3418; 入江一浩, 松島由佳, 特許 7357354, 2023 年)。特にマクロファージ系の細胞 (THP-1) に対して 10 nM の低濃度で神経細胞毒性を示した。さらに SS-A $\beta$ 42 の構造最適化を行ったところ, L17hCys,K28Cys-SS-A $\beta$ 42 が, SS-A $\beta$ 42 よりも高い凝集性と細胞毒性を示すことが明らかになった (Matsushima, Y. *et al.*, *ChemBioChem* **2022**, *23*, e202200029)。

ごく最近クライオ電子顕微鏡により AD 患者脳内の A $\beta$  凝集体の立体構造が明らかにされた。そこでこの立体構造を固定するため, 近接するアミノ酸残基どうし (20-24 位, 24-31 位) を分子内ジスルフィド結合により架橋した A $\beta$ 42 誘導体 2 種を合成した。これらのうち, 20-24 位を架橋した誘導体のみが野生型 A $\beta$ 42 と同程度の細胞毒性を示したことから, 22, 23 位でのターン構造の毒性への寄与を再確認した (Irie, Y. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2022**, *621*, 162)。

### (3) 毒性 2 量体及び 3 量体モデルの設計・合成と活性評価

これまで, 毒性配座を取りやすい E22P-A $\beta$ 40 の C 末端領域 (38 位) を L,L-diaminopimelic acid (DAP) によって架橋した 2 量体モデルが, 安定なオリゴマーとして存在するとともに SH-SY5Y 細胞に対して毒性を示すこと明らかにした

(Irie, Y. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2017**, *8*, 807)。そこで DAP リンカーの炭素鎖 (3 個) を系統的に増減することにより, 本 2 量体モデルの最適化を試みた。具体的には, 炭素数 1 から 7 個までのリンカーをもつ E22P-A $\beta$ 40 の 38 位での各種 2 量体を合成し, 凝集能ならびに細胞毒性を調べた (図 4)。

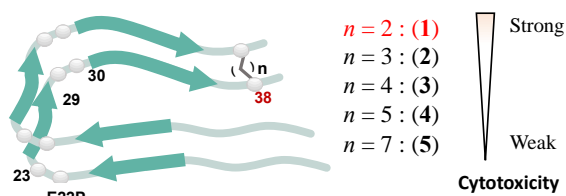


図 4 E22P-A $\beta$ 40 の 2 量体モデルの構造



その結果、炭素数 2 個のリンカー (L,L-diaminoadipic acid) で結合した 2 量体モデル (E22P,G38DAA-Aβ40 dimer) が、最も毒性の高い Aβ42 誘導体である E22P-Aβ42 に匹敵する細胞毒性を示すことが明らかになった (Chikugo, A. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2022**, *13*, 2913). 本 2 量体モデルは、毒性オリゴマー特異抗体を作製するためのきわめて有望な抗原になりうるものである。

さらに 3 量体モデルの設計・合成も行った。3 量体モデルについては、Aβ42 の 150 kD のオリゴマー中に存在するプロペラ型 (Huang *et al.*, *J. Mol. Biol.* **2015**, *427*, 2319) ならびに平行 β-シート型モデルを設計し (図 5), それぞれに必要な 3 価性 Fmoc アミノ酸リンカーを合成した (Uchino, A. *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, *2021*, 1370). 超音波型のペプチド合成機 (Initiator+ Alstra) を用いて、まず E22P-Aβ40 の 36 位または 38 位で架橋したプロペラ型の 3 量体モデルを合成した。これらの SH-SY5Y 細胞に対する毒性を評価したところ、36 位架橋体は 38 位架橋体と比べて有意に高い毒性を示した (Uchino, A. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2022**, *13*, 2517). 本結果は、Aβ42 オリゴマー中に存在が指摘されていたプロペラ型の 3 量体構造が、毒性オリゴマーの一つであることを示唆している。一方、38 位で架橋した平行型の E22P-Aβ40 の 3 量体モデルでは、2 量体モデルと同様、リンカー長が短いほど毒性が高くなることが判明した。今後、これらの 3 量体モデルについて詳細な構造最適化が望まれる。

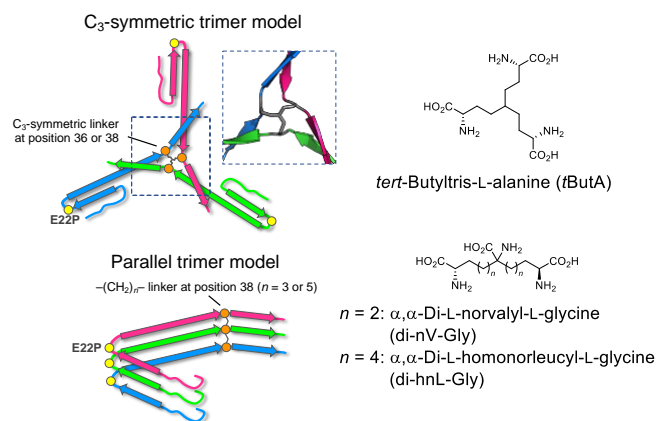


図 5 プロペラ型と平行型の 3 量体モデルの構造

#### (4) Aβ42 の毒性配座固定アナログに対する立体構造特異抗体の作製

前述したように Leu17 と Lys28 をそれぞれシステイン残基で置換し、DMSO 酸化によって分子内架橋した Aβ42 誘導体 (SS-Aβ42 : 図 6) が、E22P-Aβ42 と同等以上の細胞毒性を示すとともに、1 μM 以下の低濃度でオリゴマーとして長時間存在することを明らかにした。そこで、SS-Aβ42 をマウスに免疫し、SS-Aβ42 に対して強く結合する一方で、野生型 Aβ42 に対する結合能をほとんど示さない抗体をスクリーニングした。得られた TxCo-1 (10A1) 抗体は、AD 患者の脳切片中の Aβ 凝集体を強く認識したが、その結合は野生型 Aβ42 ならびに E22P-Aβ42 を加えてもほとんどキャンセルされなかった。また、既存の抗 Aβ 抗体の染色像と一致しない部分が多く、毒性配座をもつアミロイド β 凝集体とそうでないものが存在することが明らかになった。

さらに、TxCo-1 抗体の Fab ドメインと L17C,K28C-SS-Aβ15-30 (SS-Aβ15-30) との共結晶の X 線構造解析により、2.50Å の分解能で構造が明らかになった (図 6)。22 および 23 位を中心としたターン構造が TxCo-1 によって認識されることが判明した (Kageyama, Y. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* **2021**, *12*, 3418 : SS-Aβ42 の構造がジャーナルの Front Cover に採用; 研究協力者・景山祐介が 2021 年度滋賀医科大学学長賞, 第 63 回日本神経病理学会優秀演題賞を受賞; 2021 年度 Photon Factory ハイライトに採用)。TxCo-1 抗体は、研究代表者が提唱する「毒性ターン構造」を認識する初めての抗体であり、今後、血漿を用いた AD の超早期診断への応用が期待される (入江一浩ら, 特願 2021-059059)。

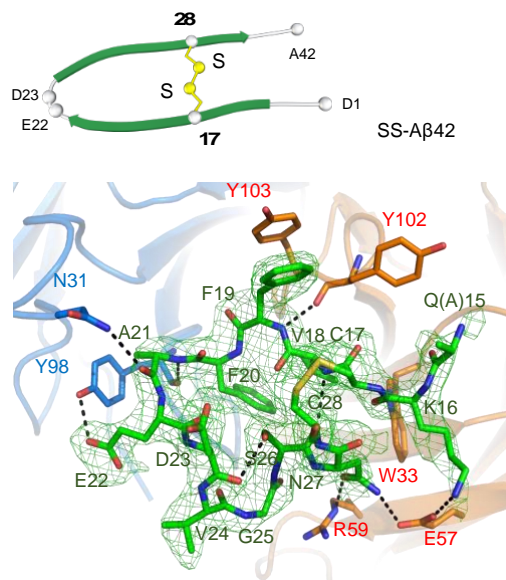


図 6 TxCo-1 Fab と SS-Aβ15-30 との共結晶構造。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Irie Yumi, Matsushima Yuka, Kita Akiko, Miki Kunio, Segawa Tatsuya, Maeda Masahiro, Yanagita Ryo C., Irie Kazuhiro	4. 巻 621
2. 論文標題 Structural basis of the 24B3 antibody against the toxic conformer of amyloid with a turn at positions 22 and 23	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 162 ~ 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.07.010	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 -
1. 著者名 Uchino Ayumi, Irie Yumi, Tsukano Chihiro, Kawase Taiji, Hirose Kenji, Kageyama Yusuke, Tooyama Ikuo, Yanagita Ryo C., Irie Kazuhiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Synthesis and Characterization of Propeller- and Parallel-Type Full-Length Amyloid 40 Trimer Models	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2517 ~ 2528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.2c00363	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 Chikugo Ayaka, Irie Yumi, Tsukano Chihiro, Uchino Ayumi, Maki Takahito, Kume Toshiaki, Kawase Taiji, Hirose Kenji, Kageyama Yusuke, Tooyama Ikuo, Irie Kazuhiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Optimization of the Linker Length in the Dimer Model of E22P-A 40 Tethered at Position 38	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2913 ~ 2923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.2c00436	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 Irie Kazuhiro, Irie Yumi, Matsushima Yuka, Kita Akiko, Kageyama Yusuke, Tooyama Ikuo	4. 巻 2021
2. 論文標題 Structural analysis of the TxCo-1 antibody effective against the toxic conformer of amyloid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Photon Factory Highlights 2021	6. 最初と最後の頁 30-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Matsushima Yuka, Irie Yumi, Kageyama Yusuke, Bellier Jean Pierre, Tooyama Ikuo, Maki Takahito, Kume Toshiaki, Yanagita Ryo C., Irie Kazuhiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Structure Optimization of the Toxic Conformation Model of Amyloid 42 by Intramolecular Disulfide Bond Formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 e202200029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202200029	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 Kageyama Yusuke, Irie Yumi, Matsushima Yuka, Segawa Tatsuya, Bellier Jean-Pierre, Hidaka Kumi, Sugiyama Hiroshi, Kaneda Daita, Hashizume Yoshio, Akatsu Hiroyasu, Miki Kunio, Kita Akiko, Walker Douglas G., Irie Kazuhiro, Tooyama Ikuo	4. 巻 12
2. 論文標題 Characterization of a Conformation-Restricted Amyloid Peptide and Immunoreactivity of Its Antibody in Human AD brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 3418 ~ 3432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.1c00416	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 Futamura Akinori, Hieda Sotaro, Mori Yukiko, Kasuga Kensaku, Sugimoto Azusa, Kasai Hideyo, Kuroda Takeshi, Yano Satoshi, Tsuji Mayumi, Ikeuchi Takeshi, Irie Kazuhiro, Ono Kenjiro	4. 巻 80
2. 論文標題 Toxic Amyloid-42 Conformer May Accelerate the Onset of Alzheimer's Disease in the Preclinical Stage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 639 ~ 646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-201407	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 Uchino Ayumi, Tsukano Chihiro, Imamoto Tsuneo, Irie Kazuhiro	4. 巻 2021
2. 論文標題 Synthesis of Alkyl Bridged Tris Amino Acids as C3 Symmetric and Linear Linkers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1370 ~ 1377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejoc.202001592	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 Irie Kazuhiro	4. 巻 84
2. 論文標題 New diagnostic method for Alzheimer's disease based on the toxic conformation theory of amyloid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1667222	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 Matsushima Yuka, Yanagita Ryo C., Irie Kazuhiro	4. 巻 56
2. 論文標題 Control of the toxic conformation of amyloid 42 by intramolecular disulfide bond formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 4118~4121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0cc01053g	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 Irie Kazuhiro	4. 巻 77
2. 論文標題 Synthesis and Structure-Function Analyses of the Toxic Dimer and Trimer Models of Amyloid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan	6. 最初と最後の頁 1201~1208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5059/yukigoseikyokaishi.77.1201	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 Irie Kazuhiro, Irie Yumi, Kita Akiko	4. 巻 36
2. 論文標題 Crystal structure analysis of the antibody that is specific to the toxic conformer of amyloid beta	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Photon Factory Activity Report 2018	6. 最初と最後の頁 No.122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -



〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 内野歩美、入江由美、筑後文馨、塚野千尋、牧 俊人、久米利明、川瀬泰司、廣瀬賢治、景山裕介、遠山育夫、入江一浩
2. 発表標題 アミロイド 40の平行 $\beta$ -シート型3量体モデルの構造最適化
3. 学会等名 2023年度日本農芸化学会大会（オンライン開催）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Irie Kazuhiro
2. 発表標題 Synthesis and characterization of dimer and trimer models of amyloid $\beta$ tethered at the C-terminal region
3. 学会等名 6th International Symposium of Kyoto Biomolecular Mass Spectrometry Society (Kyoto)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Futamura Akinori, Hieda Sotaro, Mori Yukiko, Kasuga Kensaku, Sugimoto Azusa, Kasai Hideyo, Kuroda Takeshi, Yano Satoshi, Tsuji Mayumi, Ikeuchi Takeshi, Irie Kazuhiro, Ono Kenjiro
2. 発表標題 Toxic amyloid $\beta$ 42 conformer may accelerate the onset of Alzheimer's disease in the preclinical stage
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術集会（東京）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kageyama Yusuke, Irie Yumi, Matsushima Yuka, Segawa Tatsuya, Kaneda Daita, Hashizume Yoshio, Akatsu Hiroyasu, Miki Kunio, Kita Akiko, Irie Kazuhiro, Tooyama Ikuo
2. 発表標題 Development of a conformation specific antibody identifying toxic conformation of amyloid $\beta$ peptide
3. 学会等名 第63回日本神経病理学会総会学術研究会（京都）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江由美、松島由佳、喜田昭子、三木邦夫、瀬川辰也、前田雅弘、柳田 亮、入江一浩
2. 発表標題 抗A オリゴマー抗体・24B3の毒性配座認識機構の解析
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会、第37回日本老年精神医学会（合同開催）（東京）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江一浩
2. 発表標題 アミロイド の毒性配座を基盤としたアルツハイマー病の早期診断法の開発
3. 学会等名 Visionary農芸化学100シンポジウム（京都）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江一浩
2. 発表標題 アミロイド の毒性配座を標的とした立体構造特異抗体の開発とAD診断
3. 学会等名 第11回日本認知症予防学会学術集会（福岡）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内野歩美、入江由美、塚野千尋、川瀬泰司、廣瀬賢治、入江一浩
2. 発表標題 3回対称ならびに平行型A <sub>β</sub> 40の3量体モデルの合成と機能解析
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会（京都）（オンライン開催）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 筑後文馨、入江由美、内野歩美、塚野千尋、川瀬泰司、廣瀬賢治、入江一浩
2. 発表標題 アミロイド の毒性 2 量体モデルにおけるリンカー長の凝集能と細胞毒性に及ぼす影響
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会（京都）（オンライン開催）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二村明德、稗田宗太郎、森友紀子、春日健作、杉本あずさ、笠井英世、黒田岳志、矢野 怜、辻まゆみ、池内 健、入江一浩、小野賢二郎
2. 発表標題 Toxic amyloid 42 conformer may accelerate the onset of Alzheimer's disease in the preclinical stage
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会（オンデマンド配信）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松島由佳、入江一浩
2. 発表標題 分子内ジスルフィド結合形成によるアミロイド 42の毒性配座モデルの最適化
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部例会（第514回講演会、オンライン開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内野歩美、塚野千尋、今本恒雄、入江一浩
2. 発表標題 病原性凝集ペプチドの3量体モデルのリンカーとなるアルキル架橋トリス- -アミノ酸の合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会（オンライン開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松島由佳、柳田 亮、入江一浩
2. 発表標題 分子内ジスルフィド結合形成によるアミロイド 42毒性配座固定モデルの合成および活性評価
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会（オンデマンド配信）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松島由佳、村上一馬、入江一浩
2. 発表標題 分子内ジスルフィド結合によるアミロイド 42の毒性配座固定アナログの合成と生化学的機能解析
3. 学会等名 第9回 認知症研究を知る若手研究者の集まり（ホテルヘリテージ・リゾート、熊谷市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江由美、村上一馬、花木瑞穂、花木祐輔、鈴木天志、今本恒雄、古田 巧、川端猛夫、川瀬泰司、廣瀬賢治、柳田 亮、入江一浩
2. 発表標題 準安定なアミロイド 42の毒性オリゴマーモデルの合成と機能解析
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会（広島国際会議場、広島市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江由美、花木瑞穂、村上一馬、今本恒雄、古田 巧、川端猛夫、川瀬泰司、廣瀬賢治、柳田 亮、入江一浩
2. 発表標題 アミロイド 40の3量体モデルの合成と神経細胞毒性
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会（京王プラザホテル、東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江一浩
2. 発表標題 アミロイド の毒性配座理論を基盤としたアルツハイマー病の予防戦略
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中部支部2019年度合同神戸大会（神戸大学、神戸市）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江一浩
2. 発表標題 アミロイド の毒性配座理論を基盤としたアルツハイマー病の予防戦略
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部2019年度大会（弘前大学、弘前市）（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 抗アミロイド 42モノクローナル抗体	発明者 入江一浩、松島由佳、入江由美、遠山育夫、景山裕介	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-059059	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 アミロイド 42架橋アナログペプチド	発明者 入江一浩、松島由佳	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-017362	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 アミロイド 42架橋アナログペプチド	発明者 入江一浩、松島由佳	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許7357354	取得年 2023年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

アウトリーチ活動

入江一浩：アミロイド タンパク質とは？～アルツハイマー病研究の最先端～ 第98回サイエンスカフェ伊丹、伊丹市立生涯学習センター（伊丹市）令和元年6月1日。

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	遠山 育夫  (Tooyama Ikuo)  (20207533)	滋賀医科大学・医学部・理事   (14202)	追加：2021年4月1日
研究分担者	喜田 昭子  (Kita Akiko)  (70273430)	京都大学・複合原子力科学研究所・助教   (14301)	
研究分担者	徳田 隆彦  (Tokuda Takahiko)  (80242692)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・医長（任非）   (82502)	削除：2020年9月10日
研究分担者	村上 一馬  (Murakami Kazuma)  (80571281)	京都大学・農学研究科・准教授   (14301)	削除：2020年4月1日

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
---------	---------