

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：63903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06040

研究課題名(和文) 計算機シミュレーションによる脂質膜上でのアミロイドベータペプチドの凝集過程の解明

研究課題名(英文) Aggregation process of amyloid-beta peptides on a membrane on a lipid membrane studied by computer simulation

研究代表者

伊藤 暁 (Itoh, Satoru)

分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域・助教

研究者番号：90595381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：クーロンレプリカ置換法を用いてA₄₀とA₄₂の二量体形成過程を調べた。この結果、A₄₂はβ-ヘアピンを形成しやすく、これが二量体形成を促進していることが分かった。また、A₄₂凝集の鍵となるアミノ酸残基を特定した。脂質膜上でのA₄₂の立体構造を明らかにするために、NMR実験及び分子動力学シミュレーションを行った。この結果、A₄₂は脂質膜上で2つの反平行分子間βシート構造を持つオリゴマーを形成していることが分かった。ミリセチンおよびロスマリン酸がA₄₂の凝集を阻害する機構の解明にも取り組んだ。この結果、ミリセチンはA₄₂の疎水性残基に、ロスマリン酸はA₄₂の荷電性残基に結合し、凝集を抑制していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

A₄₂が形成するオリゴマーはアルツハイマー病の原因と考えられており、アルツハイマー病を予防・治療するためにはオリゴマー形成過程を明らかにする必要がある。本研究により、A₄₂のオリゴマー形成の初期過程を解明した。また、この過程に重要なアミノ酸残基を特定した。脂質膜上でのオリゴマー構造も解明した。これらに加えて、天然由来のポリフェノールがA₄₂の凝集を抑制する機構の解明にも成功した。これらの研究を発展させることでアルツハイマー病の予防・治療に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：The dimer formation processes of Abeta40 and Abeta42 were investigated using the Coulomb replica-permutation method. The results showed that Abeta42 tended to form beta-hairpins, which accelerated dimer formation. The key amino-acid residues for Abeta aggregation were also identified.

NMR experiments and molecular dynamics simulations were performed to determine the structure of Abeta on lipid membranes. The results showed that Abeta forms oligomers with two antiparallel intermolecular beta-sheet structures on the lipid membrane.

The mechanism by which myricetin and rosmarinic acid inhibit Abeta aggregation was also investigated. The results showed that myricetin bound to hydrophobic residues of Abeta and rosmarinic acid to charged residues of Abeta, inhibiting abeta aggregation.

研究分野：生物物理

キーワード：アミロイド線維 分子シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

アミロイドベータペプチド(A β)は40残基程度のペプチドであり、凝集して形成するオリゴマーは強い神経細胞毒性を有していることが知られている。A β オリゴマーはアルツハイマー病を引き起こす原因であると考えられており、アルツハイマー病を治療するためにはA β オリゴマーの立体構造、およびその形成過程を明らかにする必要がある。

近年の研究により、A β の凝集には脂質膜が重要な役割を果たしていることが明らかになった。脂質膜にA β が吸着することで局所的な濃度が上昇し、オリゴマー形成を促進すると考えられている。また、生体膜に存在する糖脂質であるGM1ガングリオシドとA β が結合することで、凝集が促進されることが実験的に示されている。脂質膜の曲率や変形もA β の凝集に影響することが知られている。しかしながら、脂質膜上でのオリゴマーの構造や形成過程はこれまで明らかになっていない。

2. 研究の目的

(1) A β 凝集を促進する要因の特定

A β にはアミノ酸数が異なるA β 40(40残基)とA β 42(42残基)が存在している。A β 42の方がオリゴマーやアミロイド線維を形成しやすいことが知られている。しかし、その理由は明らかとなっていない。A β 40とA β 42の二量体形成過程の違いを調べることで、A β のオリゴマー形成を促進する要因を明らかにすることができる。そこで、A β 40二分子及びA β 42二分子のそれぞれの系についてハミルトニアンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。ハミルトニアンレプリカ置換法は近年私が開発した手法で、この手法を用いることで生体分子の構造を効率的に探索することが可能である。

(2) 脂質膜上でのA β オリゴマー構造の特定

生体内でA β の凝集を促進している要因の一つが神経細胞膜に多く存在するGM1ガングリオシドであると考えられている。しかしながら、GM1ガングリオシドを含む脂質膜がどのようにA β の凝集を促進するのか、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。また、脂質膜に結合した状態のA β の立体構造も不明である。そこで、GM1ガングリオシドを含む脂質膜が存在する環境下で固体核磁気共鳴分光法及び分子動力学シミュレーションを行い、脂質膜に結合したA β の立体構造を解明に取り組んだ。

(3) ポリフェノールによるA β 凝集阻害機構の解明

アルツハイマー病の治療薬として、A β の凝集を阻害する薬の開発が進められている。近年、天然由来のポリフェノールであるミリセチンおよびロスマリン酸がA β の凝集を阻害することが報告された。しかしながら、これらのポリフェノールがA β の凝集を阻害する機構は明らかになっていない。そこで、レプリカ置換分子シミュレーションを用いて、ミリセチンおよびロスマリン酸がA β の凝集を阻害する機構の解明に取り組んだ。

A β として、16番目から22番目の残基から成るフラグメントA β (16-22)を採用した。A β の16番目から22番目の残基の多くは疎水性残基であり、このフラグメント自体が凝集することが知られている。水中にA β (16-22)が二分子のみが存在する系、A β (16-22)二分子とポリフェノールが存在する系の分子シミュレーションを行い、凝集過程の違いを比較した。

3. 研究の方法

A β のオリゴマー形成過程は時間スケールが非常に遅い過程であるため、通常の分子シミュレーションでこの過程を調べることは困難である。そこで、効率的にタンパク質の構造を探索できるハミルトニアンレプリカ置換法を用いた。ハミルトニアンレプリカ置換法では、ハミルトニアンにパラメータを導入する。シミュレーションの対象となる系のレプリカを用意し、各レプリカに異なる λ の値を割り当てる。各レプリカは割り当てられた λ の値でシミュレーションを行い、シミュレーションの途中で3つ以上のレプリカ間で λ の値の置換を行う。この結果、シミュレーションの時間経過にともない各レプリカの λ の値はランダムに変化する

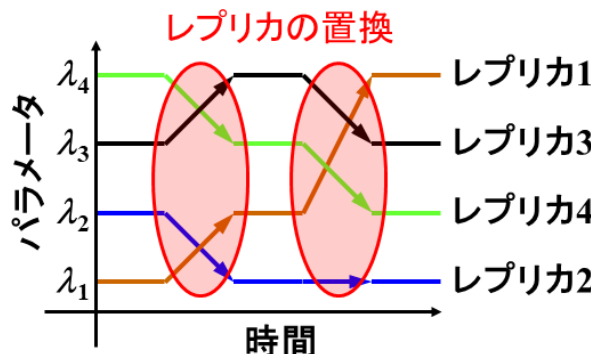


図1 ハミルトニアンレプリカ置換法の概略

(図1)。 λ の値の変化に伴い、タンパク質中の原子間に働く相互作用の強さが変化するため、タンパク質の構造が変化する。このように、ハミルトニアンレプリカ置換法を用いることで、タンパク質の構造を効率的に探索することが可能である。

4. 研究成果

(1) A β 凝集を促進する要因の特定

A β 40 と A β 42 の二量体形成過程の違いを解明するために、A β 40 二分子及び A β 42 二分子のそれぞれの系についてハミルトニアンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。シミュレーションの結果、分子内構造として、A β 42 の方が分子内 β -ヘアピンを形成しやすいことが分かった。これは Arg5 と Glu22 及び Lys28 と

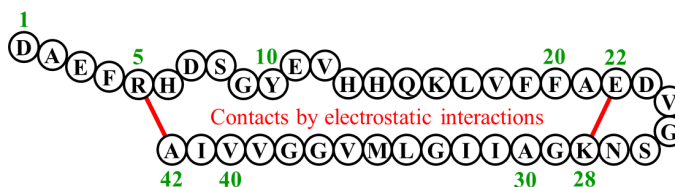


図 2 A β 42 の β -ヘアピンの概略図。Arg5 と C 末及び Glu22 と Lys28 の側鎖間で塩橋が形成されている。

C 末の間の残基数がほぼ等しく、図 2 に示すようにこれら残基の側鎖間に塩橋が形成されるために、 β -ヘアピンが安定化されるためであることが分かった。この β -ヘアピンは別の A β と安定な分子間 β -シートを形成しやすく、二量体形成を促進していることが明らかとなった。

これらのことから、Arg5 が A β 42 の凝集に重要であると予測し、予想の妥当性を検証するために変異体の凝集実験を行った。シミュレーションから予測された通り、Arg5 を変異することで A β 42 の凝集を抑制できることが分かった。

(2) 脂質膜上での A β オリゴマー構造の特定

GM1 ガングリオシドを含む脂質膜が存在する環境下で固体核磁気共鳴分光法による実験及び分子動力学シミュレーションを行った。固体核磁気共鳴分光法により得られた原子間の距離情報を満たすように分子シミュレーションを行うことで、脂質膜上に結合した A β オリゴマー構造を決定することに成功した。脂質膜上に結合した A β オリゴマー構造は反平行分子間 β -シートを形成していることが明らかになった。アミロイド線維中では平行分子間 β -シートを形成しているため、アミロイド線維中とは異なる構造を形成していることが明らかになった。

(3) ポリフェノールによる A β 凝集阻害機構の解明

分子シミュレーションを用いて、ミリセチンおよびロスマリン酸が A β の凝集を阻害する機構を明らかにするために、ミリセチンおよびロスマリン酸と A β フラグメントを含む系の分子シミュレーションを行った。

シミュレーションの結果、ミリセチンは A β (16–22)の疎水性残基に結合することで、A β (16–22)の凝集を抑制することが分かった(図 3a)。一方、ロスマリン酸は A β (16–22)の荷電性残基に結合し、A β (16–22)の凝集を抑制していた(図 3b)。

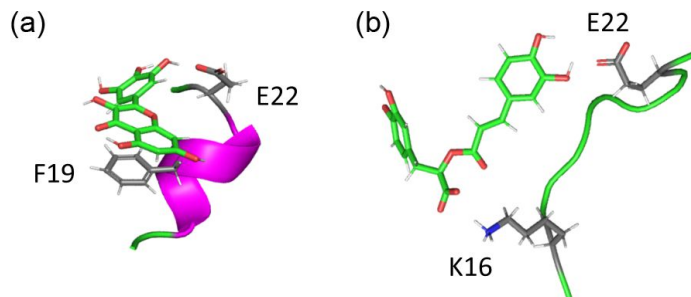


図 3: (a) ミリセチンおよび (b) ロスマリン酸が A β (16–22)に結合している様子。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fukuhara Daiki, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Inhibition of amyloid- (16-22) aggregation by polyphenols using replica permutation with solute tempering molecular dynamics simulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v20.0045	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 Yagi-Utsumi Maho, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi, Yanagisawa Katsuhiko, Kato Koichi, Nishimura Katsuyuki	4. 巻 14
2. 論文標題 The Double-Layered Structure of Amyloid- Assemblage on GM1-Containing Membranes Catalytically Promotes Fibrillization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2648 ~ 2657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.3c00192	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 Fukuhara Daiki, Yamauchi Masataka, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi	4. 巻 44
2. 論文標題 Ingenuity in performing replica permutation: How to order the state labels for improving sampling efficiency	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry	6. 最初と最後の頁 534 ~ 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.27020	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 Itoh Satoru G., Yagi-Utsumi Maho, Kato Koichi, Okumura Hisashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Key Residue for Aggregation of Amyloid- Peptides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 3139 ~ 3151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscemneuro.2c00358	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 Yamauchi Masataka, La Penna Giovanni, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi	4. 巻 276
2. 論文標題 Implementations of replica-permutation and replica sub-permutation methods into LAMMPS	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Computer Physics Communications	6. 最初と最後の頁 108362 ~ 108362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cpc.2022.108362	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 Fukuhara Daiki, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi	4. 巻 156
2. 論文標題 Replica permutation with solute tempering for molecular dynamics simulation and its application to the dimerization of amyloid- fragments	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 084109 ~ 084109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0081686	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 Okumura Hisashi, Itoh Satoru G., Nakamura Kazuhiro, Kawasaki Takayasu	4. 巻 125
2. 論文標題 Role of Water Molecules and Helix Structure Stabilization in the Laser-Induced Disruption of Amyloid Fibrils Observed by Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 4964 ~ 4976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c11491	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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Satoru G. Itoh
2. 発表標題 Molecular dynamics simulation of amyloid- peptides in bulk water and at hydrophilic/hydrophobic interfaces
3. 学会等名 Telluride Science Research Center Workshop "The Role of Fluctuations and Dynamics in Biomolecular Function" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh
2. 発表標題 Early process of oligomer formation of amyloid- peptides using the Coulomb replica-permutation method
3. 学会等名 The 16th Eurasia Conference on Chemical Sciences 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh
2. 発表標題 Generalized-ensemble Algorithms for Protein Oligomerization Processes
3. 学会等名 2023 ACS Global Innovation Imperatives and 7th International Conference on Computation for Science and Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura
2. 発表標題 Dimer formation process of amyloid- peptides studied by the generalized-ensemble algorithms
3. 学会等名 34th IUPAP Conference on Computational Physics (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh, Maho Yagi-Utsumi Koichi Kato, Hisashi Okumura
2. 発表標題 Dimer formation process of A ₄₀ and A ₄₂ using the Hamiltonian replica-permutation method
3. 学会等名 14th European Biophysics Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤 暁
2. 発表標題 分子シミュレーションを用いた アミロイド線維形成初期過程の解明
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤暁, 矢木真穂, 加藤晃一, 奥村久士
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションと実験によるA ₄₀ とA ₄₂ の凝集に関する研究
3. 学会等名 第36回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh, Maho Yagi-Utsumi, Koichi Kato, and Hisashi Okumura
2. 発表標題 Difference between the A ₄₀ and A ₄₂ aggregation processes at the atomic level
3. 学会等名 第60回生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤暁, 矢木真穂, 加藤晃一, 奥村久士
2. 発表標題 分子シミュレーションと実験で探るA ₄₀ の凝集過程
3. 学会等名 第16回分子科学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤暁, 矢木真穂, 加藤晃一, 奥村久士
2. 発表標題 A 40とA 42の凝集過程の違いに関する研究
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤暁, 矢木真穂, 加藤晃一, 奥村久士
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションとチオフラビンTアッセイによるA の凝集過程の解明
3. 学会等名 第24回理論化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoru G. Itoh
2. 発表標題 Oligomer formation of proteins studied by generalized-ensemble algorithms
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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