

論文内容の要旨

博士論文題目 Cu(I/II) complexes as models of the copper-(amyloid- β)
in-between state responsible for oxidative stress in Alzheimer's
disease

(アルツハイマー病の酸化ストレスの原因である銅-アミ
ロイド β 中間状態モデルとしての Cu(I/II)錯体)

氏名 BERTHONNAUD Léonie

Dementia is affecting about 50 million people worldwide, and Alzheimer's Disease is the most spread pathology. The Cu ion has been shown to bind to the amyloid- β (A β) peptide, and the resulting complex can catalyze the production of reactive oxygen species (ROS) in the presence of O₂ and a reductant, such as ascorbate, by the Cu ion cycling between the +I and +II oxidation states. However, the exact catalytic mechanism remains unknown. The objective of this thesis is to gain insights into the reactivity of the "in-between state" (IBS) of the Cu-A β peptide complex with CO and O₂.

In Chapter I, Alzheimer's disease, ROS formation with the Cu-A β complex, objectives of the thesis, and the properties of the Cu-tris(2-methylpyridine)amine (TMPA) model complex are described.

In Chapter II, UV-vis, EPR, NMR, FT-IR spectroscopies and the cyclic voltammetry technique used in this study are introduced.

In Chapter III, the binding of a variety of mono- and di-charge anions and of water and acetonitrile to the Cu(II)(TMPA) complex is studied using a set of techniques: X-ray characterization, UV-Vis, EPR, and cyclic voltammetry. It was revealed that SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, SO₃²⁻, and NO₃⁻, but not CF₃SO₃⁻, PF₆⁻, and ClO₄⁻, can bind to the Cu(II)(TMPA) complex in organic solvent (THF and acetonitrile), whereas a water molecule replaces the anion or the acetonitrile solvent ligand in an organic solvent/water mixture with water above a certain ratio.

In Chapter IV, the Cu(II) binding site in three peptides (A β ₁₋₁₆: DAEFRHDSGYEVHHQK-NH₂, A β ₁₋₇: DAEFRHD-NH₂, and A β ₁₃₋₁₄: HH-NH₂) were

elucidated by UV-Vis and EPR, indicating that acetonitrile did not participate in the binding to the Cu(II) complexes in aqueous buffered solution containing 10% acetonitrile.

In Chapter V, the binding of CO to Cu(I) complexes was monitored in a mixture of 10% acetonitrile and 90% 0.1 M HEPES buffer, pH 7.4. The effect of CO binding on the spectroscopic data was most prominent for the Cu(I)(A β ₁₃₋₁₄) complex among the peptide complexes studied (\gg Cu(I)A β ₁₋₇ $>$ Cu(I)A β ₁₋₁₆).

In Chapter VI, it was found that the ROS production by the Cu complex depends not only to the complex ability to activate O₂ as probed by cyclic voltammetry but also to the ability of ascorbate to reduce the Cu(II) state of the IBS.

These results, especially through aqueous solution studies, provide additional knowledge to the Cu-TMPA complex. The results obtained by the reactivity studies of the Cu(I)-A β complex toward CO and O₂ supports the hypothesis of an elusive active species of Cu-A β having a geometry "in between" the two oxidation states (+I and +II). This thesis work could further be useful to study the O₂ activation by other bio-complex models in aqueous medium.

(論文審査結果の要旨)

認知症は世界中で約 5000 万人に影響を及ぼしており、その中でもアルツハイマー病は最も患者数が多い疾病である。銅イオンはアルツハイマー病に関連するアミロイドβ (Aβ) ペプチドに結合し、得られた複合体は O₂ およびアスコルビン酸などの還元剤の存在下で活性酸素種 (ROS) の生成を触媒することが報告されている。しかし、その詳細な触媒機構は未解明のままである。そこで、本論文では、Cu-Aβ ペプチド複合体の「中間状態」 (IBS) と CO および O₂ との反応について調べた。本論文で得られた成果は以下の通りである。

1. Cu(II) (TMPA) 錯体への一価および二価の陰イオンの結合に関して、有機溶媒 (THF およびアセトニトリル) 中で SO₄²⁻、S₂O₃²⁻、SO₃²⁻、NO₃⁻ イオンは結合するが、CF₃SO₃⁻、PF₆⁻、ClO₄⁻ イオンは結合しないことを明らかにした。また、Cu(II) (TMPA) 錯体への水およびアセトニトリルの結合に関して、有機/水混合溶媒の水の割合が一定値を超えると、陰イオンやアセトニトリルの配位子が水分子に置き換わることを明らかにした。

2. 3 つのペプチド (Aβ1-16 : DAEFRHDSGYEVHHQK-NH₂、Aβ1-7 : DAEFRHD-NH₂、Aβ13-14 : HH-NH₂) において、10% アセトニトリルを含む緩衝液中ではアセトニトリルは Cu(II) 錯体へ結合しなかった。Cu(I) 錯体では、CO 結合に伴うスペクトル変化は Cu(I)(Aβ13-14) 複合体で最も顕著だった (>> Cu(I)(Aβ1-7) > Cu(I)(Aβ1-16)) 。

3. Cu 錯体による ROS 生成は、Cu 錯体の O₂ 活性化能力だけでなく、アスコルビン酸による IBS Cu(II) 状態の還元力にも依存することを明らかにした。

以上のように、本論文では水溶液での研究を通じて、Cu(TMPA) 錯体への水などの溶媒分子の配位子結合特性を明らかにした。本研究の成果は、CO および O₂ に対する Cu(I)-Aβ 複合体の反応性に新たな知見を与えるものであり、生命科学分野の研究として高く評価でき、学術的に大きな意義がある。よって、審査委員一同は本論文が博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認めた。