

# 化学触媒を用いた光酸素化反応による神経変性疾患の治療を目指して

相馬 洋平<sup>1</sup>, 金井 求<sup>2</sup>

## 1. はじめに

タンパク質の異常凝集によるアミロイドの形成がさまざまな神経変性疾患の発症に関与している。たとえば、アミロイド $\beta$ ペプチド ( $A\beta$ ) およびタウの凝集体は、アルツハイマー病や前頭側頭葉変性症の原因となる。また、 $\alpha$ シヌクレインおよびTDP-43の凝集は、それぞれパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の発症に関与する。したがって、アミロイド凝集体の形成抑制や除去促進は、神経変性疾患の治療戦略となりうる。

アミロイドは、疎水の相互作用を鍵とするタンパク質間での相互作用に基づいて、クロス $\beta$ シートを形成することを立体構造上の特徴とする。したがって、クロス $\beta$ シートの形成・維持に重要なアミロイドの疎水性表面に対し、親水性の高い酸素原子を導入 (= 酸素化) することは、アミロイドを不安定化することにつながると考えられる。実際、 $A\beta$ のメチオニン残基側鎖がスルホキッドへと酸素化された $A\beta$ は、もとの $A\beta$ と比べて凝集性が低下することがよく知られている。近年著者らのグループをはじめ、生体内でアミロイドを酸素化する化学触媒 (= 酸素化触媒) の創製、およびこれを利用した神経変性疾患の治療法の開発研究が進められている (図1)。本稿では、化学触媒を用いた光酸素化によるアミロイドの性質変化や臨床応用を目指した研究展開について概説したい。

## 2. 光酸素化反応を受けたアミロイドの性質変化

著者らの研究開始当時、ビタミンB2であるリボフラビンが、分子酸素を酸素原子ドナーとして、可視光照射下、低分子化合物を酸素化することがフラスコ内での実験として知られていた<sup>1)</sup>。そこで、フラビン系の触媒を用いて、 $A\beta$ の光酸素化反応を試みたところ、 $A\beta$ のヒスチジン、チロシン、およびメチオニン残基が酸素化を受けた<sup>2)</sup>。酸素化された $A\beta$ は、ネイティブの $A\beta$ と比べ、凝集性を持たなかったことに加え、神経細胞に対する毒性も顕著に低下した。チオフラビン型の触媒 (図2) を用いて $A\beta$ を酸素化した場合は、チロシンは酸素化されず、主にヒスチジン残基での酸素化が進行したが、このHis酸素化 $A\beta$ においても、凝集性および毒性は顕著に減少していた<sup>3)</sup>。別のアミロイドタンパク質であるアミリンにおいても、ヒスチジン残基の酸素化により、凝集性が顕著に低減された。また、著者らが化学触媒による $A\beta$ の光酸素化を報告して以来、さまざまなグループからアミロイドに対する多様な光酸素化触媒が報告されているが、いずれの触媒においても、酸素化されたアミロイドの凝集性・毒性が低下することが示されている<sup>4)</sup>。なお、これら触媒の母骨格としては、フラレン<sup>5)</sup>、カーボン量子ドット<sup>6)</sup>などの炭素材料、メチレンブルー<sup>7)</sup>、ポルフィリン<sup>8)</sup>などの低分子有機化合物、遷移金属錯体<sup>9,10)</sup>など多岐にわたる。中には、酸素化によりアミロイド形成につながる凝集を阻害するだけでなく、すでに形成されたアミロイドを酸素化により解離したケースもある<sup>7)</sup>。

細胞内に存在するタウのアミロイド形成および細胞間伝播を介した脳内でのタウアミロイドの広がりには、 $A\beta$ の凝集と同様、アルツハイマー病発症につながる重要なイベントであると考えられている。BODIPY (boron-dipyrromethene) を母骨格とした触媒により光酸素化を受けたタウアミロイドは、凝集核としてのシード機能がネイティブのタウアミロイドと比べて低下しており、その結果、培養細胞内でのタウの凝集を大幅に遅延させた<sup>11)</sup>。具体的には、インタクトなタウアミロイドと酸素化されたタウアミロイドを、それぞれ、タウを発現している培養細胞に導入したところ、酸素化タウアミロイドを導入した場合は、細胞内でのタウの凝集化促進が抑制された。この結果は、タウアミロイドを酸素化することにより、脳内でのタウ病変の広が

<sup>1</sup>和歌山県立医科大学薬学部 (〒640-8156 和歌山県和歌山市七番丁25-1)

<sup>2</sup>東京大学大学院薬学系研究科 (〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1)

**Therapeutic strategy for neurodegenerative diseases by photooxygenation reaction using chemical catalysts**

**Youhei Sohma<sup>1</sup> and Motomu Kanai<sup>2</sup>** (<sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences, Wakayama Medical University, 25-1, Shichibancho, Wakayama 640-8156, Japan, <sup>2</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940406

© 2022 公益社団法人日本生化学会

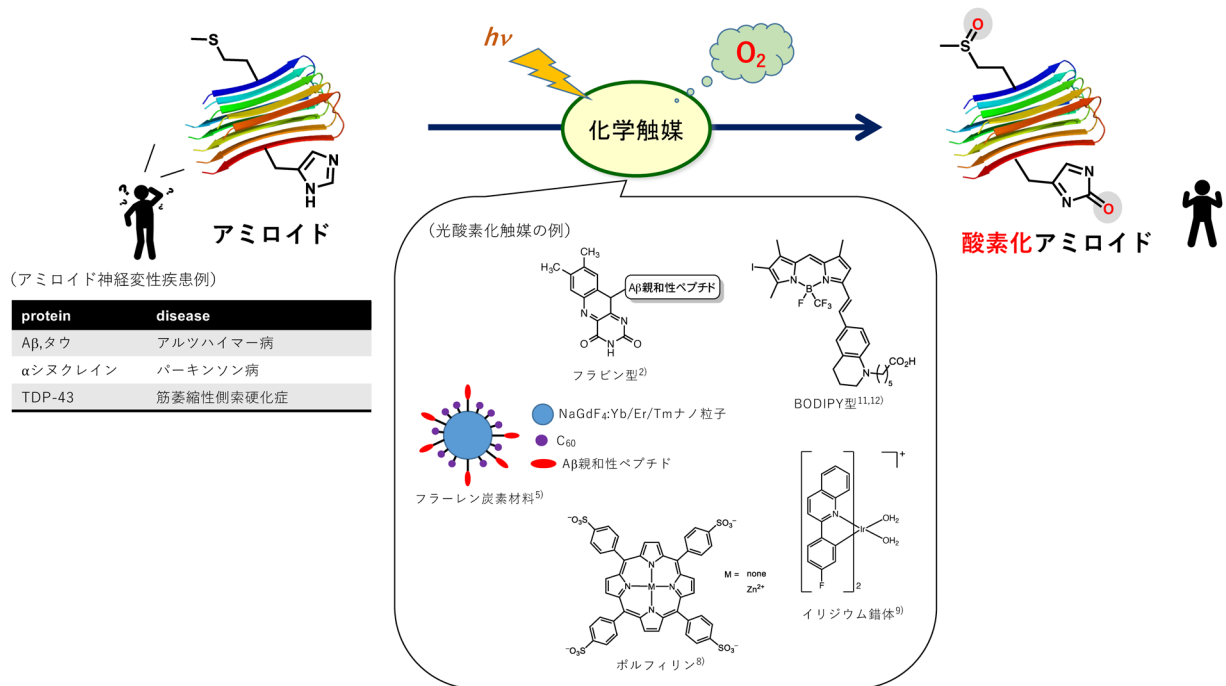


図1 生体内アミロイドを光酸化する化学触媒およびこれを利用した神経変性疾患の治療

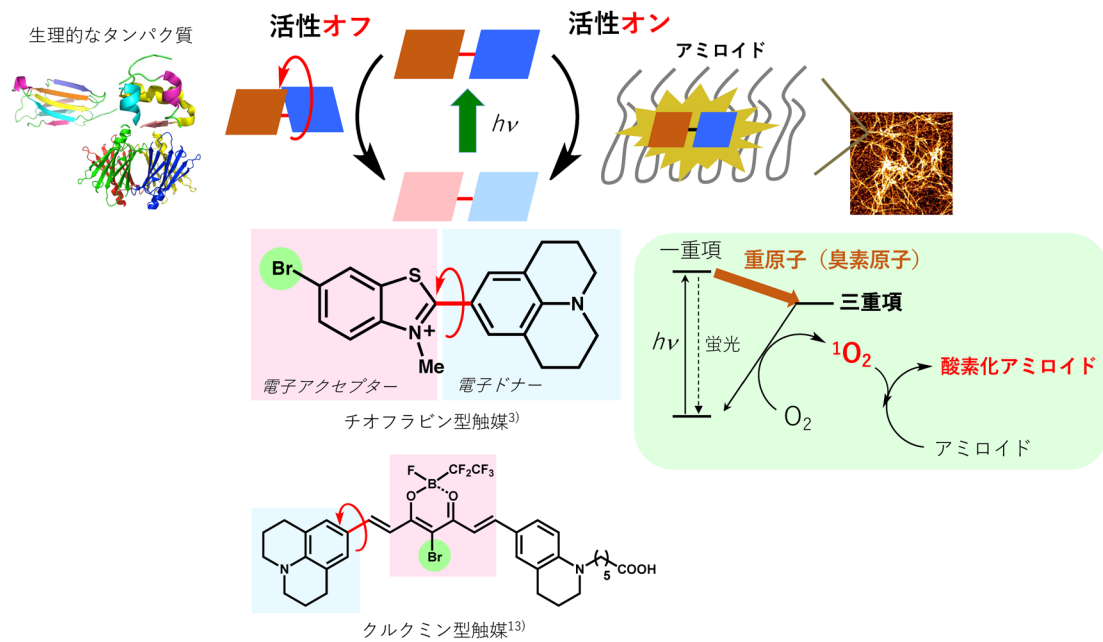


図2 アミロイドの有無を感知することにより、触媒が活性化（または不活性化）することのできるオン／オフスイッチ可能な触媒

アミロイドが存在しない状況では、光照射による励起状態において、電子ドナー部分と電子アクセプター部分の間の単結合における回転運動によって、緩和する際、酸化活性を発しない。一方、アミロイドのクロスβシートと結合することにより、励起状態にて結合回転運動が抑制されることに伴い、励起三重項状態の触媒濃度が増加する。これが分子酸素にエネルギーを移すことにより、アミロイドの近傍でのみ、反応性の高い一重項酸素を産生する。

りを抑制できる可能性を示唆するものである。

一方、Aβアミロイドを酸化することによって、マウス脳内での除去促進が可能であることが示された<sup>12)</sup>。こ

れは、酸化されたAβアミロイドが、ミクログリア細胞内のリソソーム分解系による代謝を受けやすくなるためであった。また、マウス脳内での光酸化を介したAβレベ

ルの減少によって、脳機能の改善および認知機能が回復する知見も報告されている<sup>10)</sup>。

### 3. アミロイドを選択的に光酸素化する化学触媒

上記のように、アミロイドを酸素化することにより、その凝集・毒性化阻害や除去促進など、アミロイドの病態機能を抑制できることが示された。しかしながら、このようなアミロイドの酸素化を、治療目的で個体内にて行う場合、さまざまな障壁が存在すると考えられる。その一つはアミロイドに対する酸素化反応の選択性である。すなわち、アミロイド以外のオフターゲット基質に対して酸素化が起ると、生理的な機能を果たすはずの生体分子を損傷することになり、副作用の出現につながる。このような問題を回避するためには、アミロイド選択的に酸素化反応を起こすことのできる触媒設計が必要となる。

触媒に対し、アミロイドに親和性を持つリガンド分子を共役することにより、リガンドの近接効果によって、触媒がアミロイドの近傍で活性化される確率が向上し、結果的に、アミロイドへの反応選択性が向上すると考えられる。実際、 $A\beta$ 親和性ペプチドを共役した触媒は、 $A\beta$ リガンドを持たない触媒と比べて、 $A\beta$ に対する酸素化反応の選択的が向上した<sup>2,5)</sup> (図1)。また、メチレンブルー<sup>7)</sup> やボルフィリン<sup>8)</sup> のように、触媒自身がアミロイド親和性を持つケースもある。しかしながら、これらの触媒は、光を照射することにより常に活性化されるため、オフターゲットへの反応を完全に回避することは難しいと考えられる。特に、アミロイドの濃度が触媒に対して低くなっている条件や、アミロイドに対するリガンドの親和性が十分高くはない条件などでは、オフターゲットへの反応が起りやすくなると考えられる。

そこで、アミロイドの有無を感知することにより、触媒が活性化（または不活性化）することのできるオン/オフスイッチ可能な触媒の設計を行った。すなわち、光照射下でも、アミロイドが存在しない条件において触媒は活性化されず、アミロイドが存在して初めて触媒が活性化される原理を採用した。これにより、光が当たっただけでは触媒活性化は起こらないため、アミロイドと触媒の存在比やアミロイドリガンドの親和性などに関係なく、オフターゲットへの反応を回避することができると期待した。このような触媒設計指針のもと、アミロイドに対する蛍光プローブの構造および発光原理に着目した<sup>3)</sup>。チオフラビン-Tとして知られる蛍光プローブは、アミロイドが存在しない状況では、光照射による励起状態において、電子ドナー部分（ジメチルアニリン）と電子アクセプター部分（ベンゾチアゾール）の間の単結合における回転運動によって、緩和する際、蛍光を発しない（無輻射失活）。一方、チオフ

ラビン-Tはアミロイドのクロス $\beta$ シートと結合することにより、励起状態にてこの結合回転運動が抑制される結果、蛍光を発して緩和する。我々は、この仕組みに着目し、チオフラビン-T類縁体の母骨格に対し、臭素原子を導入した触媒を設計した（図2）。すなわち、重原子である臭素原子は、励起一重項状態から励起三重項状態への遷移確率を向上するため（重原子効果）、励起三重項状態の触媒濃度が増加し、これが分子酸素にエネルギーを移すことにより、反応性の高い一重項酸素を産生することができると考えた。重要な点は、アミロイドが存在するごく近傍でのみ一重項酸素が生成されることであり、これによりアミロイドを選択的に酸素化することができる。実際、この触媒は、500nmの可視光照射下、 $A\beta$ アミロイドを高い収率で酸素化する一方、非アミロイド基質に対しては酸素化を起こさなかった。その結果、この触媒は、 $A\beta$ 親和性ペプチドを共役した触媒（前述）と比べて、アミロイド選択性が大幅に向上した。このチオフラビン型触媒はまた、 $A\beta$ 以外のアミロイドに対しても、同様の結果を与えた。特に、生理的な立体構造をとっているアミリン、インスリン、トランスサイレチン、 $\alpha$ シヌクレインなどのタンパク質とはまったく反応しなかったのに対し、これらタンパク質が凝集してできたアミロイドに対しては高収率で酸素化を引き起こした。BODIPY型触媒<sup>11,12)</sup> (図1) およびクルクミン型触媒<sup>13)</sup> (図2) もまた、オン/オフスイッチ可能なアミロイド光酸素化触媒であるが、チオフラビン型触媒よりもさらに共役系が長い化学構造であるため、組織透過性が高い長波長光で活性化可能である。

### 4. マウス脳内で光酸素化可能な化学触媒

$A\beta$ の蓄積を伴うアルツハイマー病モデルマウスに対し、BODIPY型触媒を脳室内投与したのち、光ファイバーを用いて患部へ光照射を行うことにより、脳内における光酸素化反応を行った<sup>12)</sup>。ウェスタンブロットによる解析の結果、 $A\beta$ のHis酸素化を契機としたクロスリンク反応に由来する二量体バンドが光酸素化処置依存的に検出され、脳内での $A\beta$ 酸素化の進行が確認された。さらに、 $A\beta$ アミロイドの酸素化によりミクログリアによる貪食が亢進する結果、マウス脳内において $A\beta$ 濃度が低下することがわかった（「2. 光酸素化反応を受けたアミロイドの性質変化」も参照）。

しかしながら、BODIPY型触媒は血液脳関門（BBB）を通過することができなかったため、脳内で光酸素化反応を実行するためには、マウスの脳に対して侵襲的な手術を要した。そこで、BBBを通過可能な触媒分子の検討を行った結果、アゾベンゼンホウ素錯体型触媒に行き着いた<sup>14)</sup> (図3)。アゾベンゼンホウ素錯体型触媒も、凝集 $A\beta$ を効



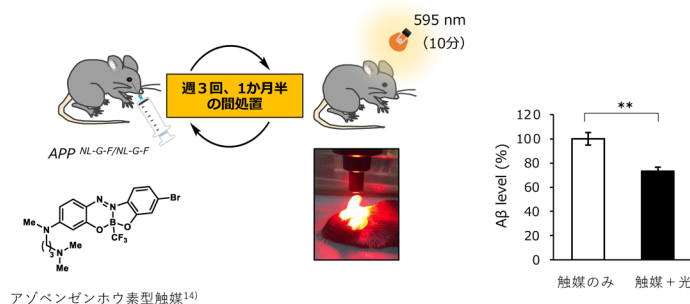


図3 BBBを通過可能なアゾベンゼンホウ素錯体型触媒

触媒の末梢投与および体外からの光照射（10分）からなる非侵襲的な処置を繰り返し行うことにより，マウス脳内のAβレベルが未処置群と比べて30%程度減少した。

率的に酸素化することができた一方，非アミロイド性のペプチド基質に対しては，酸素化を起こさなかった。また，アルツハイマー病モデルマウスの脳切片を用いた染色実験においても，本触媒がアミロイドと選択的に結合していることが示された。アゾベンゼンホウ素錯体型触媒を末梢から投与したところ，良好な脳内移行性を示した。さらに600nm程度の比較的長波長の光で活性化可能であり，マウス脳内でAβアミロイドを光酸素化することができた。その結果，触媒の末梢投与と体外からの光照射といった非侵襲的な処置をマウスに繰り返し行うことにより，脳内のAβレベルを未処置群と比べて30%程度減少することができた。この間，光酸素化によるマウスへの重篤な副作用はみられなかった。なお，Kuangらも，異なる触媒を用いて，マウス脳内での光酸素化を介したAβレベルの減少化を報告している<sup>10)</sup>。

## 5. おわりに

空気中の分子酸素を酸素原子ドナーとして，光照射下，アミロイドを酸素化することのできる化学触媒の開発および神経変性疾患治療を目指した研究展開について紹介した。酸素化を受けたアミロイドは，凝集性および毒性が顕著に低下するだけでなく，ミクログリアでの貪食が亢進することによってマウス脳内での除去が促進するという興味深い機構も同定されている。また，アミロイドに対する触媒的光酸素化法を疾患治療法として開発する観点から，アミロイドの有無を感知して活性化（不活性化）することが可能で，アミロイドを高選択的に酸素化できる触媒が創製された。さらに，BBBを通過可能な触媒骨格の開発にも至っており，この触媒を末梢から投与することにより，非侵襲的な方法によるマウス脳内でのAβアミロイドの光酸素化および減少化に成功している。

現在，脳内のAβレベルを下げることによりアルツハイマー病の治療が可能であることが，抗Aβ抗体による臨床

評価から示されつつある<sup>15)</sup>。同じく脳内Aβを減少することのできる光酸素化触媒は，低分子量の有機化合物であるため，抗体と比べてBBB透過性の面で優位性がある。また，低分子量の有機化合物であるがゆえ，合成コストも低く抑えられるため，薬価の面でも抗体と比べて優位性がある。しかしながら，光酸素化触媒を実際の治療で用いるためには，ヒト脳内での触媒活性化，アミロイド酸素化による治療効果の実証，酸素化による副作用の詳細な精査など，引き続き検討を要する。また，酸素化を受けた残基の種類，場所，数と分解亢進度との関係性，ミクログリア以外の経路による酸素化アミロイドの分解亢進機構の有無など，酸素化によるアミロイドの病態改善メカニズムに関する基礎研究のさらなる進展も重要である。さらに，タウ，αシヌクレイン，TDP-43といった細胞内アミロイドに対する光酸素化反応の展開も今後の焦点の一つである。

## 謝辞

本稿で紹介した著者ら自身の研究結果に関して，生物学的実験の多くは，東京大学大学院薬学系研究科・機能病態学教室の富田泰輔教授，堀由起子准教授のもとで行われたものであり，ここに深く感謝いたします。また，当該研究の一部は，科学技術振興機構，日本学術振興会，文部科学省の支援を受けて行われたものであり，関係諸機関に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Dad'ová, J., Svobodová, E., Sikorski, M., König, B., & Cibulka, R. (2012) Photooxidation of sulfides to sulfoxides mediated by tetra-*O*-acetylriboflavin and visible light. *ChemCatChem*, **4**, 620–623.
- 2) Taniguchi, A., Sasaki, D., Shiohara, A., Iwatsubo, T., Tomita, T., Sohma, Y., & Kanai, M. (2014) Attenuation of the aggregation and neurotoxicity of amyloid-β peptides by catalytic photooxygenation. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 1382–1385.
- 3) Taniguchi, A., Shimizu, Y., Oisaki, K., Sohma, Y., & Kanai, M.

- (2016) Switchable photooxygenation catalysts that sense higher-order amyloid structures. *Nat. Chem.*, **8**, 974–982.
- 4) Sohma, Y., Sawazaki, T., & Kanai, M. (2021) Chemical catalyst-promoted photooxygenation of amyloid proteins. *Org. Biomol. Chem.*, **19**, 10017–10029.
  - 5) Du, Z., Gao, N., Wang, X., Ren, J., & Qu, X. (2018) Near-infrared switchable fullerene-based synergy therapy for alzheimer's disease. *Small*, **14**, 1801852.
  - 6) Chung, Y.J., Lee, B.I., & Park, C.B. (2019) Multifunctional carbon dots as a therapeutic nanoagent for modulating Cu(II)-mediated  $\beta$ -amyloid aggregation. *Nanoscale*, **11**, 6297–6306.
  - 7) Lee, B.I., Suh, Y.S., Chung, Y.J., Yu, K., & Park, C.B. (2017) Shedding Light on Alzheimer's  $\beta$ -amyloidosis: Photosensitized methylene blue inhibits self-assembly of  $\beta$ -amyloid peptides and disintegrates their aggregates. *Sci. Rep.*, **7**, 7523.
  - 8) Lee, B.I., Lee, S., Suh, Y.S., Lee, J.S., Kim, A., Kwon, O.-Y., Yu, K., & Park, C.B. (2015) Photoexcited porphyrins as a strong suppressor of  $\beta$ -amyloid aggregation and synaptic toxicity. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 11472–11476.
  - 9) Kang, J., Nam, J.S., Lee, H.J., Nam, G., Rhee, H.-W., Kwon, T.-H., & Lim, M.H. (2019) Chemical strategies to modify amyloidogenic peptides using iridium(III) complexes: Coordination and photo-induced oxidation. *Chem. Sci. (Camb.)*, **10**, 6855–6862.
  - 10) Zhang, H., Hao, C., Qu, A., Sun, M., Xu, L., Xu, C., & Kuang, H. (2020) Light-induced chiral iron copper selenide nanoparticles prevent  $\beta$ -amyloidopathy in vivo. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **59**, 7131–7138.
  - 11) Suzuki, T., Hori, Y., Sawazaki, T., Shimizu, Y., Nemoto, Y., Taniguchi, A., Ozawa, S., Sohma, Y., Kanai, M., & Tomita, T. (2019) Photo-oxygenation inhibits tau amyloid formation. *Chem. Commun. (Camb.)*, **55**, 6165–6168.
  - 12) Ozawa, S., Hori, Y., Shimizu, Y., Taniguchi, A., Suzuki, T., Wang, W., Chiu, Y. W., Koike, R., Yokoshima, S., Fukuyama, T., Takatori, S., Sohma, Y., Kanai, M., & Tomita, T. (2021) Photo-oxygenation by a biocompatible catalyst reduces amyloid- $\beta$  levels in the brains of Alzheimer's disease model mice. *Brain*, awab058.
  - 13) Ni, J., Taniguchi, A., Ozawa, S., Hori, Y., Kuninobu, Y., Saito, T., Saido, T.C., Tomita, T., Sohma, Y., & Kanai, M. (2018) Near-infrared photoactivatable oxygenation catalysts of amyloid peptide. *Chem*, **4**, 807–820.
  - 14) Nagashima, N., Ozawa, S., Furuta, M., Oi, M., Hori, Y., Tomita, T., Sohma, Y., & Kanai, M. (2021) Catalytic photooxygenation degrades brain A $\beta$  in vivo. *Sci. Adv.*, **7**, eabc9750.
  - 15) Liu, K.Y. & Howard, R. (2021) Can we learn lessons from the FDA's approval of aducanumab? *Nat. Rev. Neurol.*, **17**, 715–722.

## 著者寸描

### ●相馬 洋平 (そうま ようへい)



和歌山県立医科大学薬学部教授。博士(薬学)。

■略歴 2005年京都薬科大学大学院薬学研究科修了(博士)。06年シカゴ大学リサーチアソシエート。09年京都薬科大学助教。12年JST-ERATO金井触媒分子生命プロジェクト医薬機能グループグループリーダー & 東京大学大学院薬学系研究科グループリーダー(講師相当)。21年

より現職。

■研究テーマと抱負 ペプチド・タンパク質の化学研究を通してケミカルバイオロジー研究、および革新的な医薬分子や創薬手法の創出を目指す。

■ウェブサイト [https://www.wakayama-med.ac.jp/pharm/yakuhiin\\_kagaku/](https://www.wakayama-med.ac.jp/pharm/yakuhiin_kagaku/)

■趣味 ジョギング。

### ●金井 求 (かない もとむ)



東京大学大学院薬学系研究科教授。博士(理学)。

■略歴 1989年東京大学薬学部卒業。92年同大学院薬学系研究科博士課程を中退し、大阪大学産業科学研究所助手。96年米国ウイスコンシン大学博士研究員。97年東京大学大学院薬学系研究科助手、2000年講師、03年准教授を経て、10年より現職。

■研究テーマと抱負 触媒化学。物質合成と生命科学・疾患治療を進化させる触媒の創製。生体内化学秩序に人為的に介入する触媒。

■ウェブサイト <https://gousei.f.u-tokyo.ac.jp/index.html>

■趣味 アウトドア。