

審査の結果の要旨

氏名 永島 臨

永島は「アルツハイマー病治療を志向した生体内アミロイドβ光酸素化触媒の開発」というタイトルで以下の研究を行った。

【研究背景】

アルツハイマー病は脳の萎縮とともに認知機能の低下を引き起こす、進行性の神経変性疾患であり、その患者数は年々増加している。その病理学的特徴である老人斑はアミロイドβ (Aβ)の凝集体を主な構成成分としていることから、Aβの凝集がアルツハイマー病発症に強く関与しているとする「アミロイド仮説」が唱えられている。我々のグループではAβが疎水的な相互作用によって凝集することに着目して、Aβに対する光酸素化触媒を開発し、その酸素化により凝集性や毒性を低減させることに成功している。しかしながら *in vivo* 反応への応用は手術を介した侵襲的な手法に限られており、アルツハイマー病治療に向けては未だ課題を残している。そこで永島は *in vivo* 反応に適用可能な新規光酸素化触媒の開発に着手した。

【方法・結果】

光酸素化触媒を *in vivo* 反応へと適用するためには、① 高いAβ選択性 ② 組織透過性の高い長波長光 (>600 nm)による励起 ③ 高い血液脳関門(BBB: Blood-Brain Barrier)透過能の三点すべてを満たしている必要がある。そこで永島は、アゾベンゼン-ホウ素錯体を母骨格とした **1** を設計した。**1** のAβ選択性発現機構として、凝集アミロイド非存在下では折れ曲がった構造を取れるために酸素化活性を示さず、凝集アミロイドと結合したときのみ折れ曲がりやが抑えられ活性を示すスイッチ ON/OFF 機構を想定した(Figure 1)。さらにそのコンパクトな構造から高い BBB 透過能が期待でき、静脈内投与後に BBB を透過して脳内で長波長光を吸収することで、非侵襲的な手法による Aβの光酸素化を目指した。

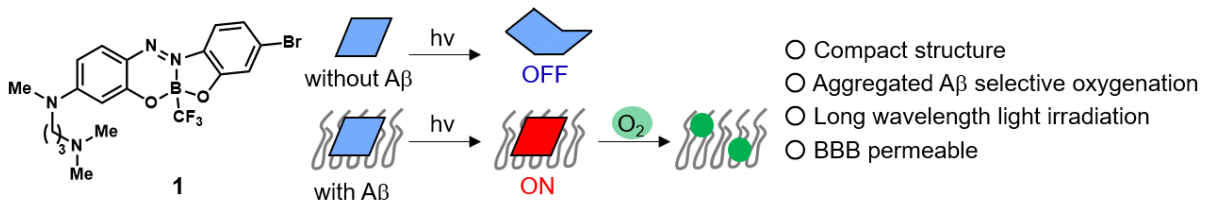


Figure 1: Development of new switching ON/OFF catalyst **1**

1 を用いて 595 nm の光を用いて凝集 Aβに対する酸素化反応を検討したところ、反応は円滑に進行した(Figure 2A)。また、トリプトファンやチロシン、ヒスチジン、メチオニンなどを持つオフターゲットペプチドを用いて選択性を評価したところ、Aβでは73%の収率にて反応が進行した条件において他のペプチドでは収率が4%以下にとどまっております、**1** が高い選択性にてAβの酸素化反応を進行させることが示された(Figure 2B)。

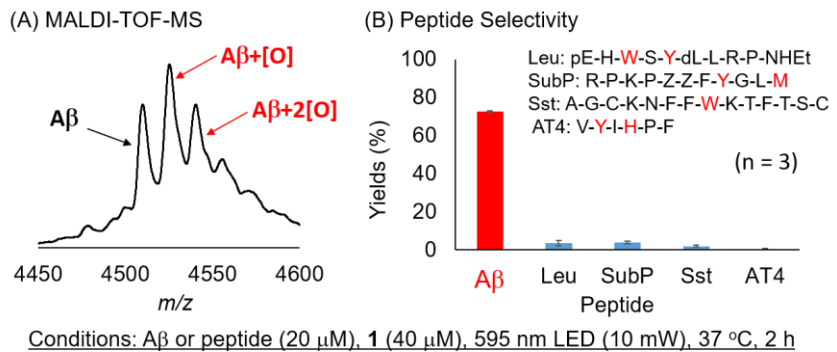


Figure 2: Aβ photooxygenation and peptide selectivity

また永島は、**1** のスイッチ ON/OFF 機構について詳細に調べた。まず、**1** の凝集 A β 存在下および非存在下における蛍光スペクトラムの変化を調べたところ、**1** は凝集 A β 存在下でのみ蛍光を示すことが明らかになった(Figure 3A)。さらに一重項酸素に関しても、凝集 A β 存在下でのみ生成することを確認した。これらの結果から、**1** が凝集 A β と結合することで、蛍光発光および項間交差を介した一重項酸素の生成が促進されている可能性が示唆された。また永島は、密度汎関数法を用いて基底状態および励起状態における構造の最適化を行い、基底状態ではアゾベンゼン構造の C-N-N-C の二面角が 164° と比較的平面性の高い構造を取るのに対して、励起状態では二面角が 149° と若干折れ曲がった構造を取っていることを計算予測した(Figure 3B)。以上から分子の折り畳みによってスイッチ ON/OFF 機構を持っていることが示唆された。

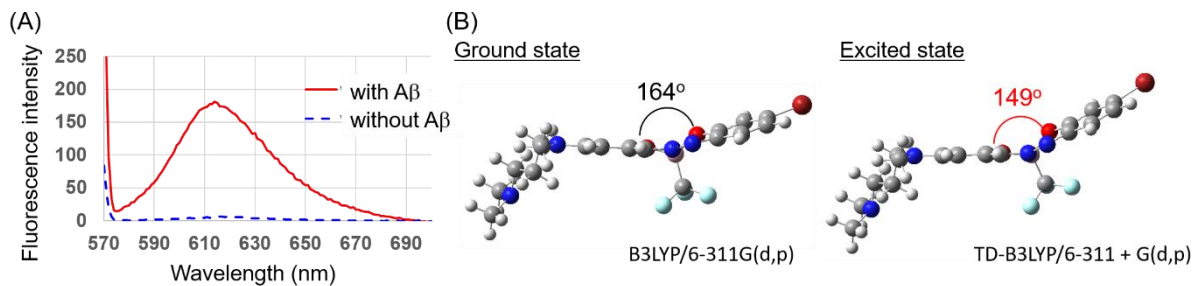


Figure 3: (A) Fluorescence spectra of **1** (B) Optimized structure of **1** in the ground state and excited state

さらに、*in vivo* 反応への応用を目指し、触媒の BBB 透過能を調べた。マウスを用いて、触媒を静脈内投与した後の脳内存在量を評価した。その結果、以前に研究室で報告していた光酸素化触媒と比較して十分に高い BBB 透過能を示し、投与 60 分後には投与量の 1.55% の量が脳から回収された。現在報告されている A β プローブと同等の透過率であったことから、高い割合で BBB を透過していると考えられる。

そこで永島は、静脈内投与および外部からの光照射のスキームによる酸素化活性を評価した。11 ヶ月齢のアルツハイマー病モデルマウスに触媒を静脈内投与し、その 60 分後に 600 nm の光を照射した。この操作を 5 回繰り返す、マウスの海馬由来サンプルをウエスタンブロット法にて評価した。その結果、触媒投与・光照射を行ったマウス(レーン 1~3)において触媒のみを投与したマウス(レーン 4~6)と比較して酸素化による生成物と考えられる二量体が強く検出された(Figure 4)。以上から永島は、触媒 **1** を新たに開発することで *in vivo* 系において A β の光酸素化に成功した。

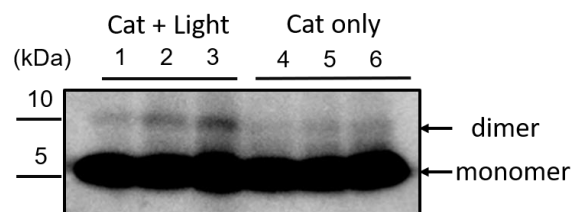


Figure 4: A β photooxygenation *in vivo*

以上のように永島は、世界で初めて非侵襲的手法による脳内アミロイド β の光酸素化に成功した。さらに **1** は新たなスイッチ機構を有する分子であり、今後の当研究室における光酸素化触媒開発だけでなく蛍光分子のような他分野での応用も期待でき、化学の発展に大きく寄与するものと考えられ、博士(薬科学)の学位論文として合格と認められる。