

光で標的生体分子を 不活化する技術の開発

東京薬科大学 薬学部 医療衛生薬学科

准教授 谷口 敦彦

2024年 8月 8日

技術背景①

光で生体分子を制御する技術

生体分子の活性を制御する技術は、治療法や生命科学研究ツールとして有用である。

なぜ光か？

- 外部からの光照射によって制御可能
- 精密な制御が可能

時間：光を照射した時のみ変化が起こる。

場所：光を照射した場所のみ変化が起こる。

強度：光強度を上げれば、強く速く変化が起こる。

波長：照射光の波長に合った分子のみが変化を起こす。

技術背景②

光酸素化を用いた生体分子の不活化

「光によって励起した**光酸素化剤（光増感剤）**が、**酸素分子**を活性酸素（ROS）に変換し、タンパク質等の生体分子の化学構造に酸素原子を挿入する反応」



- 光で生体外部から精密な制御可能
- 生体内に存在する酸素分子を利用可能
- 生体内環境（水系、pH中性、37°C）で速やかに進行
- 酸素原子の挿入による劇的なタンパク質の高次構造変化
- 光酸素化剤は不可逆的かつ触媒的に作用

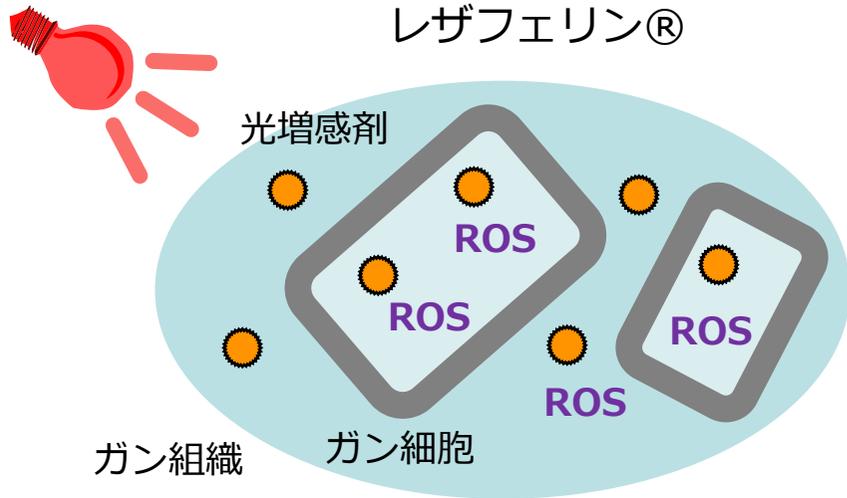
生体における分子の不活化に適している。

従来技術とその課題

光を用いた治療法

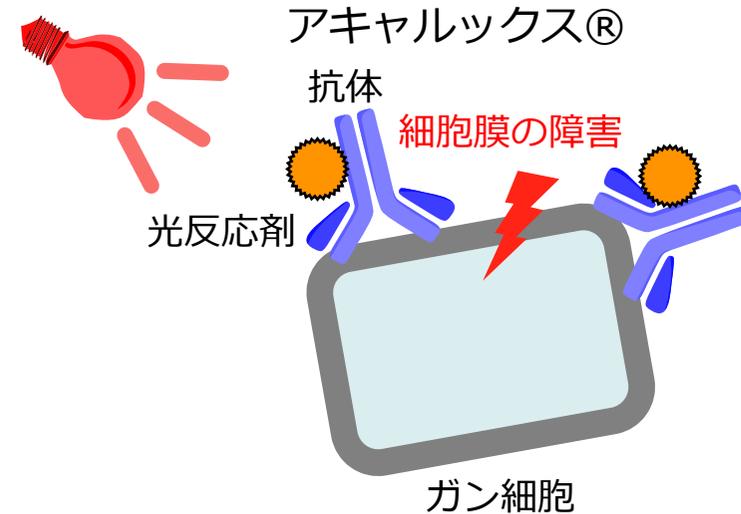
光線力学的療法
(photodynamic therapy: PDT)

レザフェリン®



光免疫療法
(photoimmuno therapy: PIT)

アキラルックス®



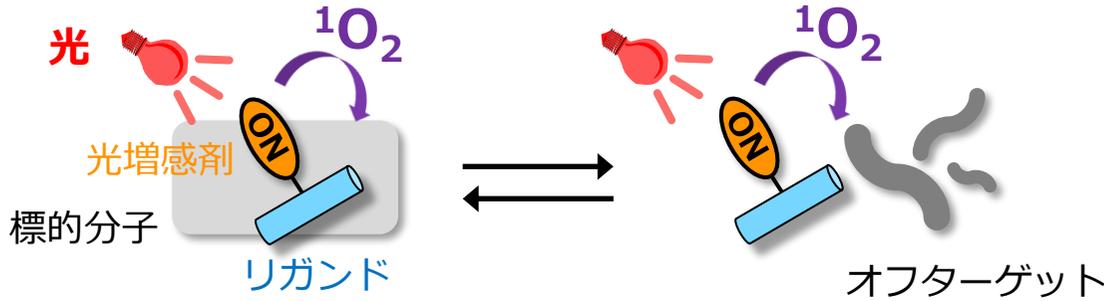
近年、生体に利用できる**光照射デバイス**の開発も著しく進んでおり、今後光を用いた手法の発展が期待される。

【課題】

組織や**細胞**を標的とした手法であり、対象疾患は主にガンに限られる。
分子を標的とした手法が確立できれば、多様な疾患を対象にできる。

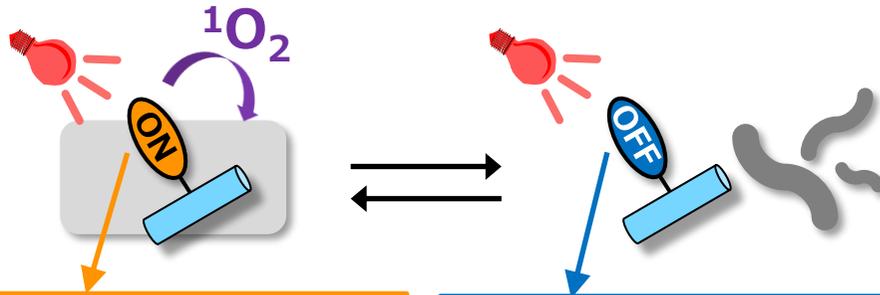
新技術の特徴

従来

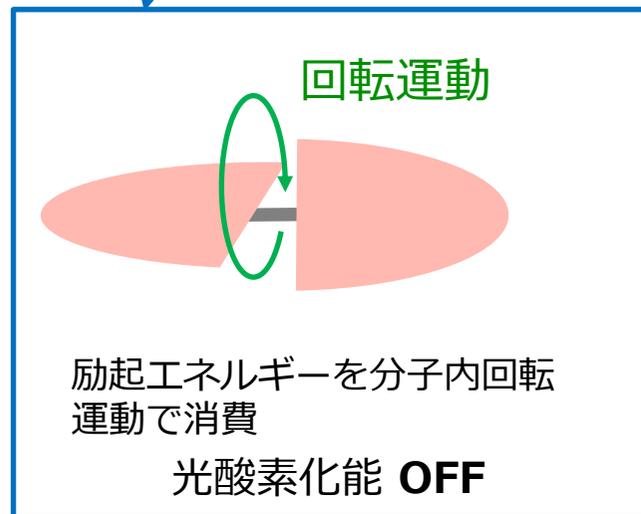
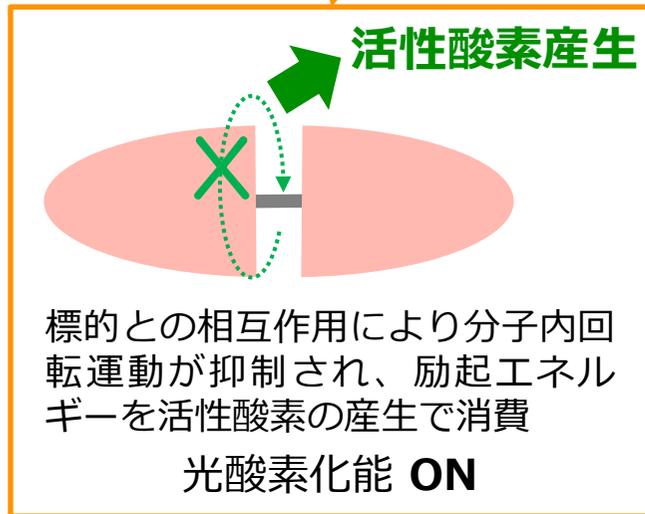


標的と乖離時も光酸素化能を有しているため、オフターゲット分子が反応するリスクがある。

今回



標的と結合時のみ光酸素化能を発揮するため、標的選択的な反応が可能。



特性

- ON/OFF 光酸素化能
- 非特異的吸着の低減
- 近赤外光による励起



生体内で標的分子
選択的な光酸素化

分子ローター型 ON/OFF 光酸素化剤

光酸素化剤の特性

化学構造
非公開

1

化学構造
非公開

2

化学構造
非公開

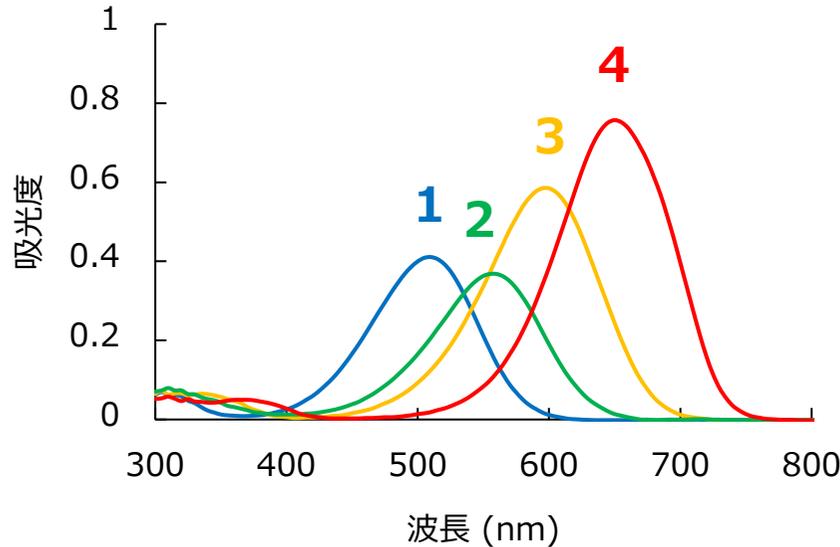
3

化学構造
非公開

4

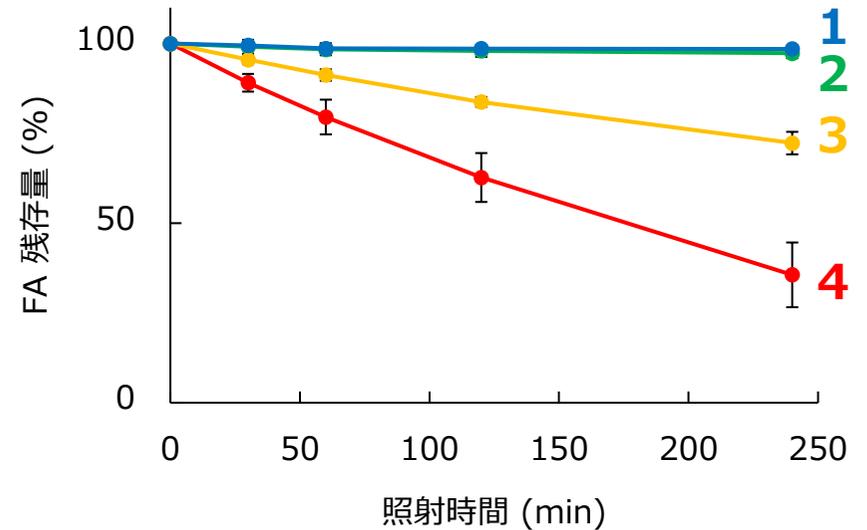
分子ローター型光酸素化剤

吸収スペクトル



10 μ M compound, PB (10 mM, pH 7.4)

近赤外光照射による活性酸素発生能



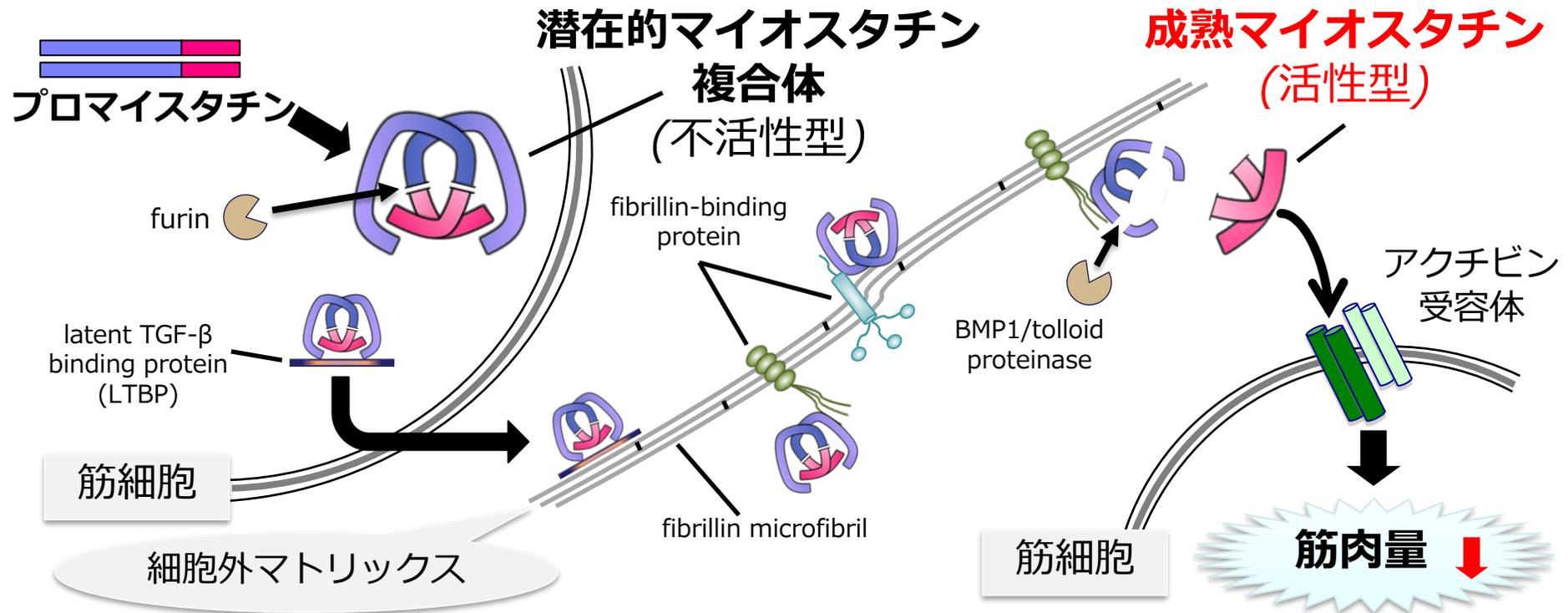
200 μ M compound, 1 mM furfuryl alcohol (FA),
75% glycerol/water, 730 nm light, 240 min

組織透過性が高く、侵襲性が低い近赤外光照射で光酸素化能を発揮する。
また、光酸素化剤を選ぶことで、任意の波長で光酸素化を行うことができる。

応用例：マイオスタチン

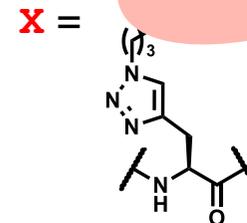
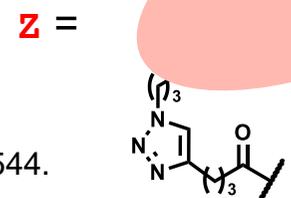
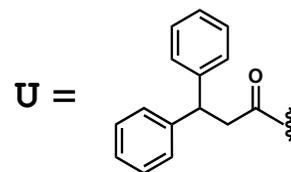
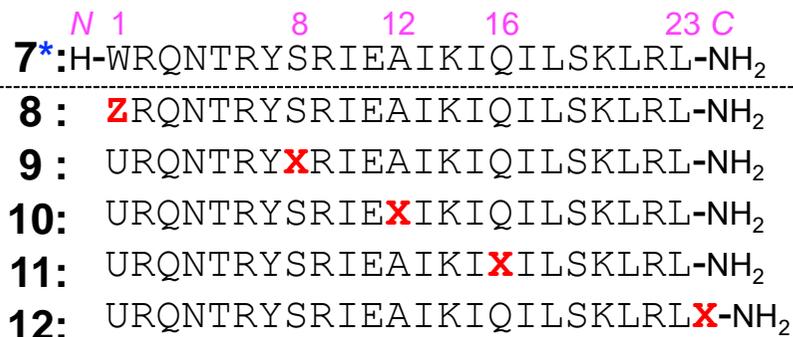
マイオスタチン (myostatin; GDF8: growth differentiation factor 8)

- ・ TGF- β superfamily の一つ
- ・ 筋量を負に制御する因子

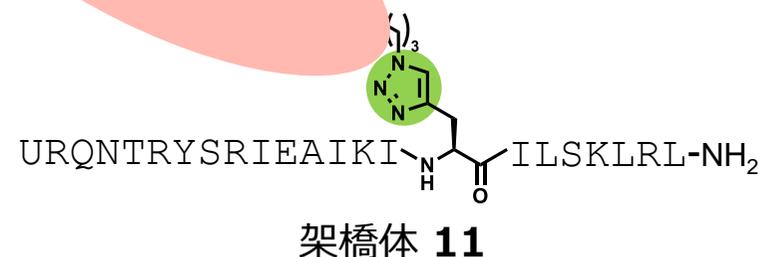
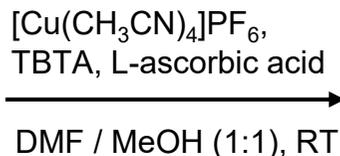
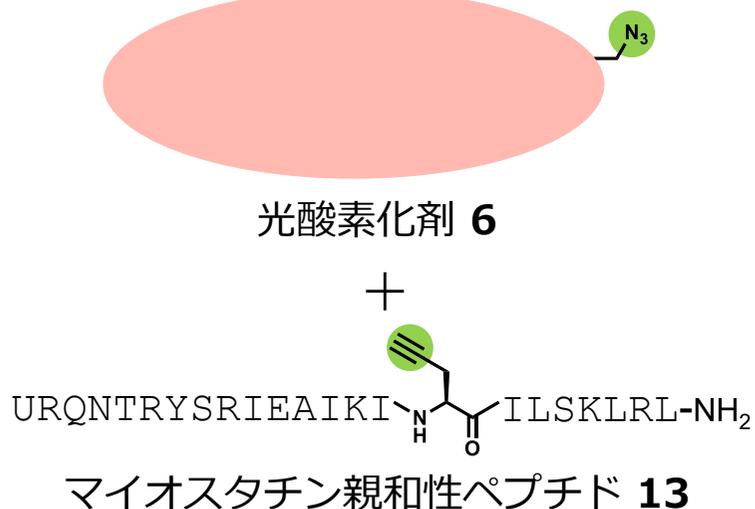


マイオスタチン阻害は筋ジストロフィー、カヘキシア、サルコペニア等の筋萎縮生疾患の治療につながる。

架橋体の合成



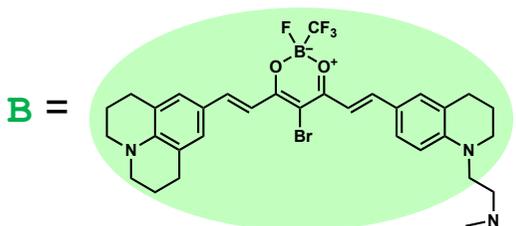
*マイオスタチン親和性ペプチド: *J. Med. Chem.*, **2015**, 58, 1544.



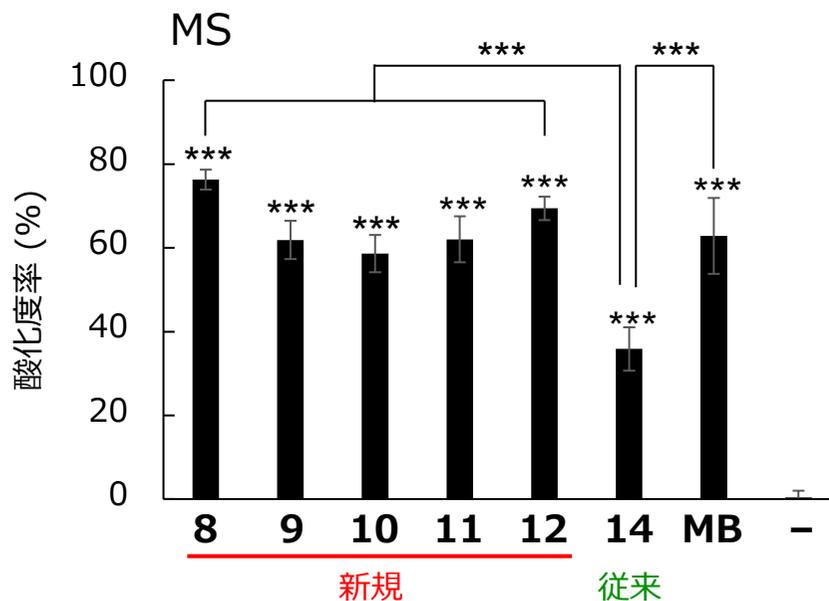
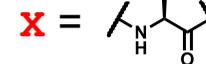
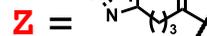
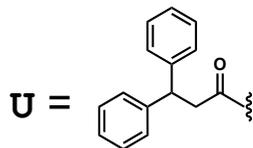
光酸化剤とリガンドの架橋は、簡便で汎用されるクリック反応で行うことが可能。
 基本的にどの架橋反応（例：マレイミド-チオール、*N*-ヒドロキシスクシンイミドエステル-アミン）
 も利用可能。

マイオスタチン光酸素化

- N 1 8 12 16 23 C
- 14: URQNTRYSRIEAIKIBILSKLRL-NH₂
-
- 8: ZRQNTRYSRIEAIKIQLSKLRL-NH₂
- 9: URQNTRYXRIEAIKIQLSKLRL-NH₂
- 10: URQNTRYSRIEIXIKIQLSKLRL-NH₂
- 11: URQNTRYSRIEAIKIXILSKLRL-NH₂
- 12: URQNTRYSRIEAIKIQLSKLRLX-NH₂



Org. Biomol. Chem.,
2021, 19, 199, 13.



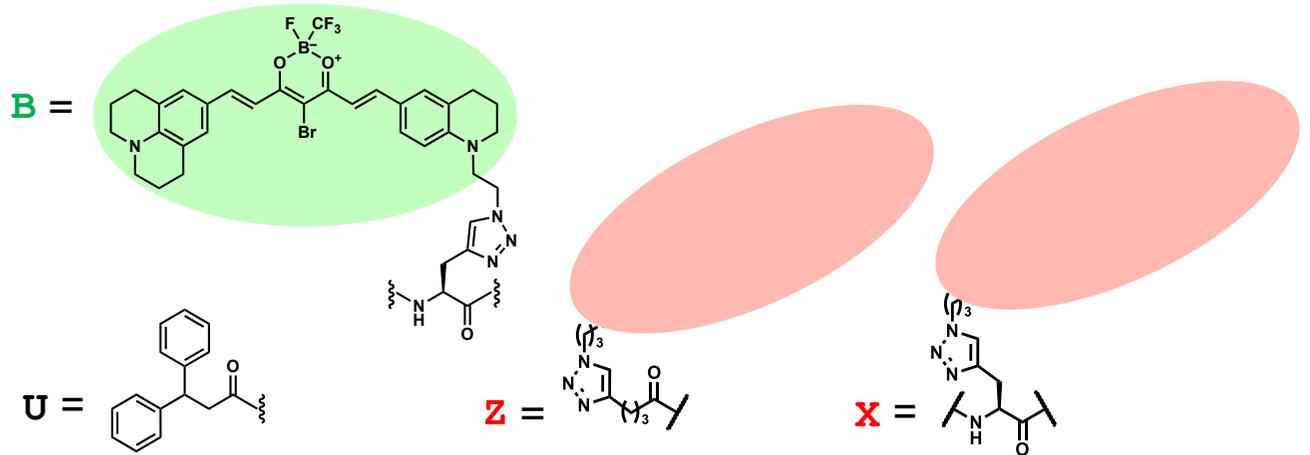
1 μ M myostatin,
3 μ M compound,
730 nm light, 27 mW,
rt, 5 min

n = 3, mean \pm s.d.; *** $p < 0.001$, vs. control and the indicated pairs by Tukey's test

新規架橋体 8-12 は高いマイオスタチン光酸素化能を示した。

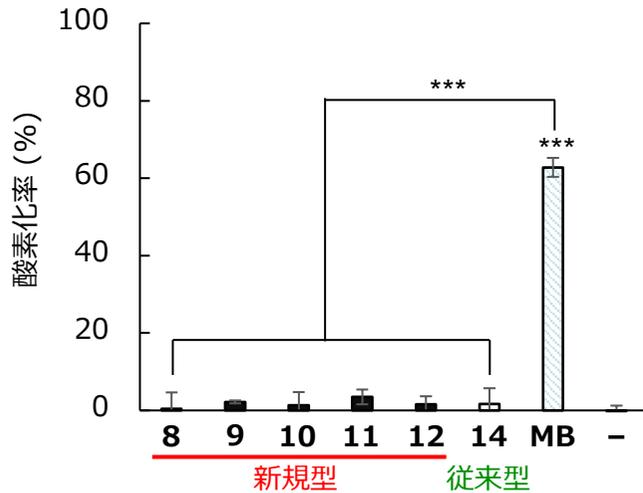
オフターゲット光酸素化

- N 1 8 12 16 23 C
- 14: URQNTRYSRIEAIKIBILSKLRL-NH₂
- 8: ZRQNTRYSRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 9: URQNTRYXRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 10: URQNTRYSRIEIXIKIQILSKLRL-NH₂
- 11: URQNTRYSRIEAIKIXILSKLRL-NH₂
- 12: URQNTRYSRIEAIKIQILSKLRLX-NH₂

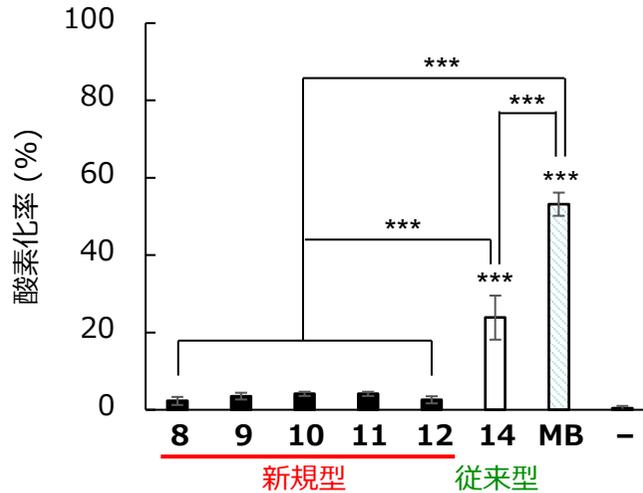


オフターゲットモデルの光酸素化

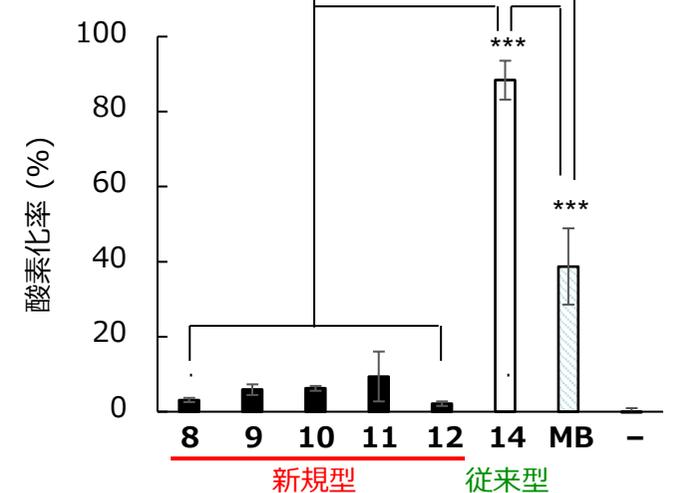
amyloid β 1-42 (A β 42)



neuropeptide Y (NPY)



substance P (SP)

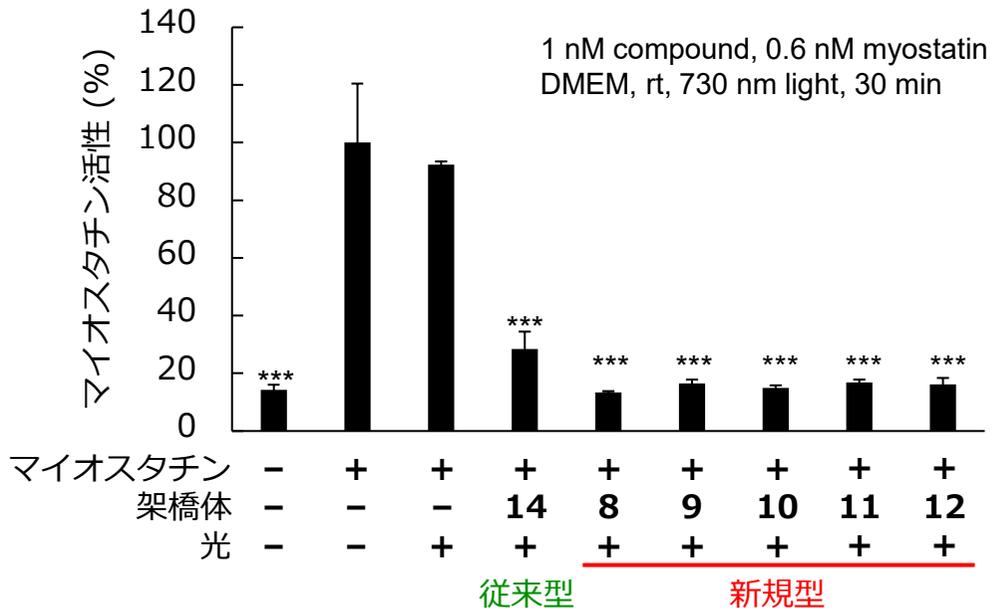
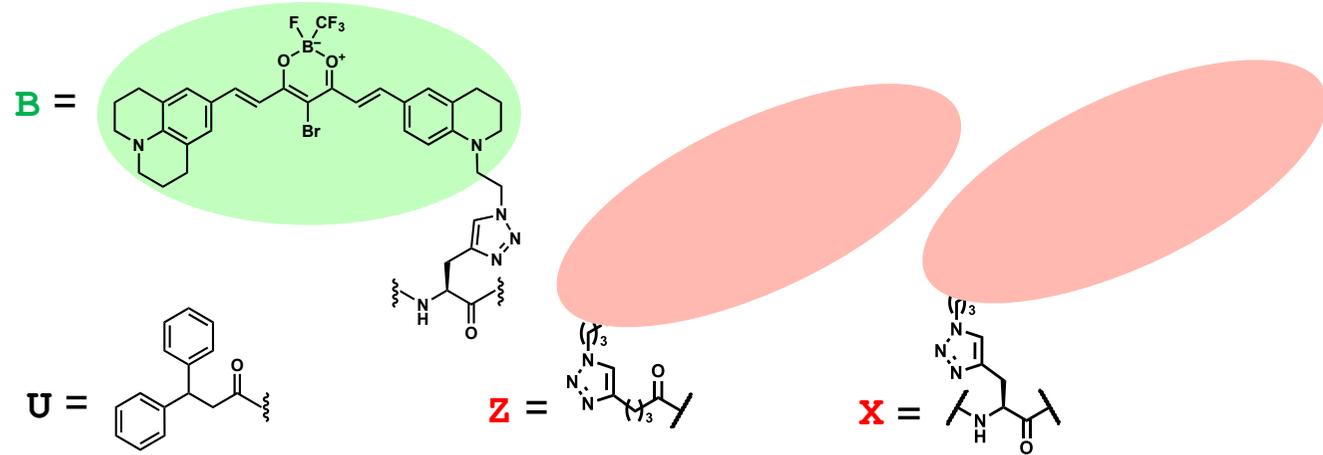


3 μ M compound, 20 μ M A β 42 or NPY or SP, PB (pH 7.4), rt, 730 nm light, 30 min. n = 3. mean \pm s.d.; ***p < 0.001, vs. control and the indicated pairs by Tukey's test.

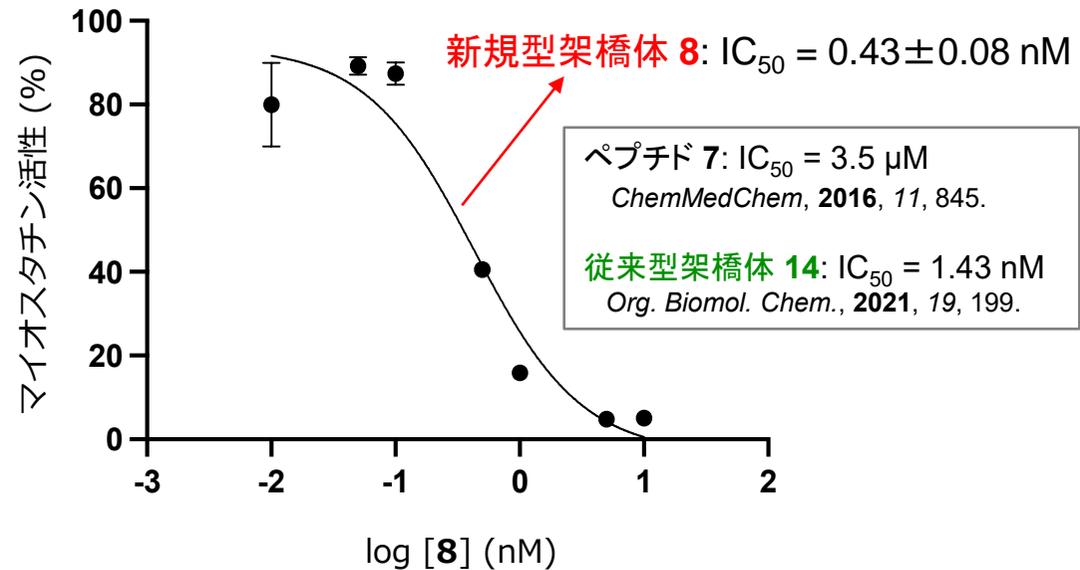
新規架橋体 **8-12** はオフターゲットモデルに対して光酸素化を起こしにくい。

マイオスタチン不活化

- N 1 8 12 16 23 C
- 7: H-WRQNT**R**YSRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 14: URQNT**R**YSRIEAIK**B**ILSKLRL-NH₂
-
- 8: **Z**RQNT**R**YSRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 9: URQNT**R**Y**X**RIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 10: URQNT**R**YSRIE**X**IKIQILSKLRL-NH₂
- 11: URQNT**R**YSRIEAIK**X**ILSKLRL-NH₂
- 12: URQNT**R**YSRIEAIKIQILSKLRL**X**-NH₂



n = 3, mean ± s.d.; ***p < 0.001, vs. myostatin alone by Tukey's test.

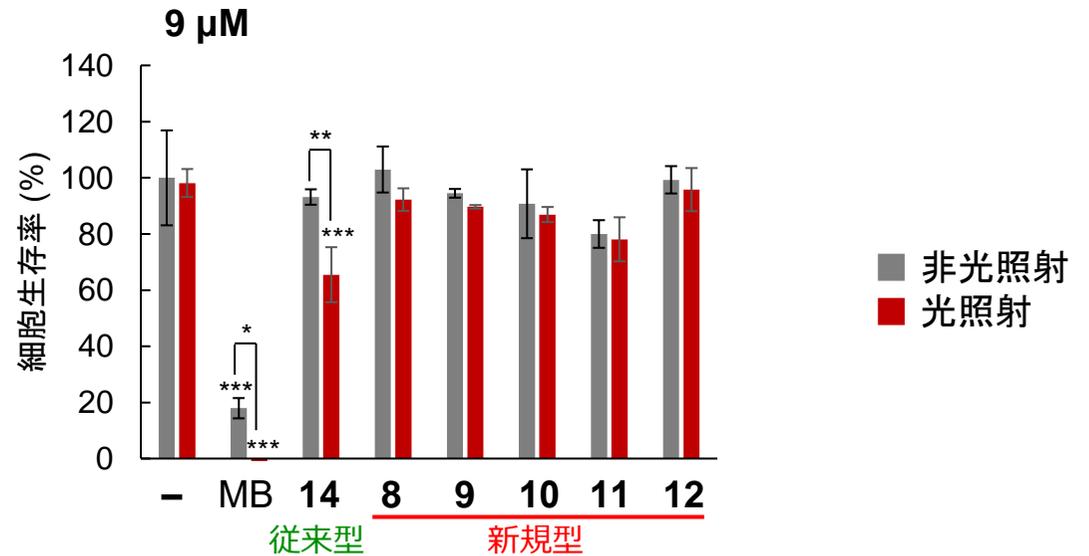
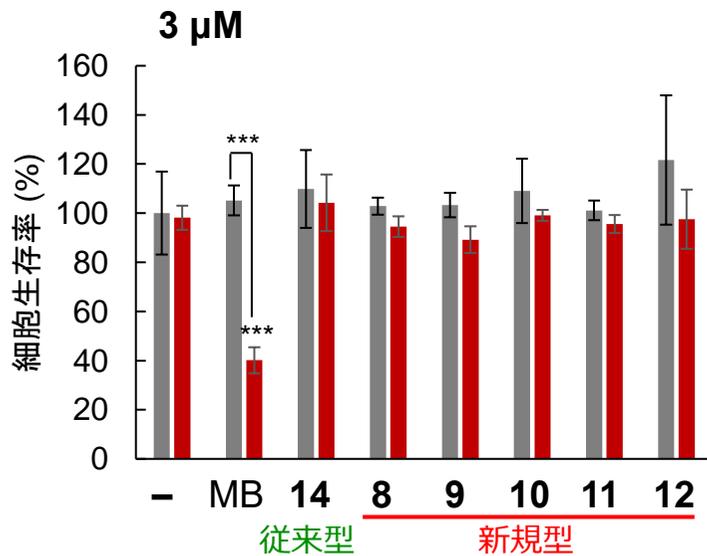
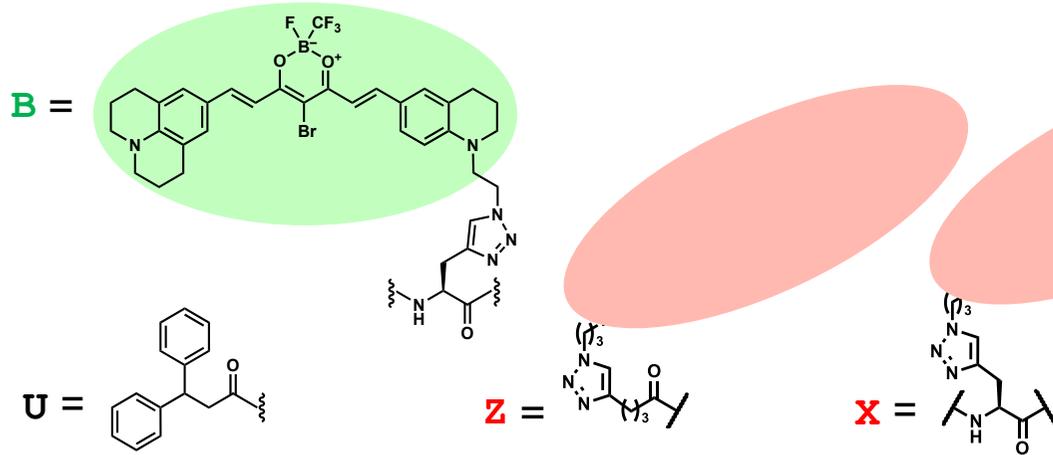


新規型架橋体 **8-12** はマイオスタチンを光酸化によって不活化した。

新規型 **8** の阻害効果はマイオスタチン親和性ペプチド **7** の 8000 倍以上、従来型 **14** の 3 倍以上高かった。

細胞毒性

- N 1 8 12 16 23 C
- 14: URQNTRYSRIEAIKIBILSKLRL-NH₂
- 8: ZRQNTRYSRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 9: URQNTRYXRIEAIKIQILSKLRL-NH₂
- 10: URQNTRYSRIEIXIKIQILSKLRL-NH₂
- 11: URQNTRYSRIEAIKIXILSKLRL-NH₂
- 12: URQNTRYSRIEAIKIQILSKLRLX-NH₂



3 or 9 μM compound, HEK293 cells, DMEM, 37°C, 730 nm light, 30 min.
n = 3, mean ± s.d., *p < 0.05, **p < 0.01 and ***p < 0.001 vs. control and the indicated pairs by Tukey's test.

新規型架橋体 **8-12** は有意な細胞毒性および光毒性を示さなかった。

想定される用途

【医療分野】 病原性分子の不活化による新しい光治療法

- ✓ 光で限定した作用発現による負担の少ない治療
- ✓ 分子選択的光酸素化によるガン以外への光治療の応用
- ✓ 既存の医薬品構造に光酸素化剤を組み込むことで、可逆的かつ触媒的な不活化による阻害効果の向上や投与量の低減
- ✓ 既存の光照射デバイスを転用可能

【生命科学研究分野】 研究対象の生体分子を光制御できる実験ツール

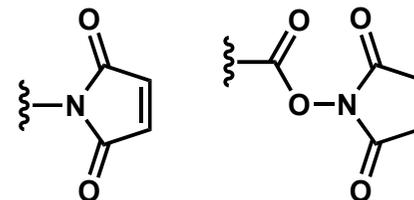
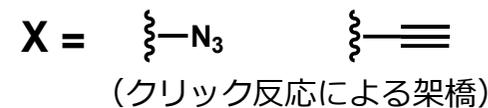
- ✓ 標的分子を細胞や動物体内で時間・空間分解能をもってノックダウンできる
- ✓ 任意のリガンドに光酸素化剤を導入することで、望みの生体分子を標的とすることが可能
- ✓ 導入する光酸素化剤を選択すれば、励起波長の選択が可能



(700 nm 光で励起)



(500 nm 光で励起)



(チオールとの架橋) (アミンとの架橋)

実用化に向けた課題

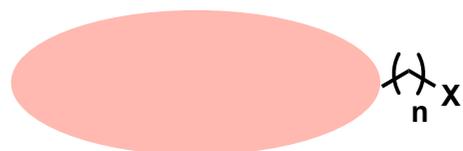
- 現在、マウス実験で有効性が示されている。しかし、安全性や薬物動態の観点でより詳細なデータを収集する必要がある。
- 有効性や安全性の精度を向上できるように、光照射条件（光源、光強度、照射時間等）を精査していく必要がある。
- マイオスタチン、3CLプロテアーゼ以外の標的にも応用できるか、汎用性を検討していく。

企業への期待

- 安全性や薬物動態に関する動物実験が可能な企業
 - 光照射デバイス（特に生体への照射）の技術を持つ企業
 - 興味深い標的生体分子のリガンドや評価系を持つ企業
- と産学連携できれば、さらに本技術の有用性を高められる。
- 生命科学研究や創薬研究を進めている企業
 - 医療分野で新しい光治療への展開を考えている企業
 - 基礎研究分野で試薬開発を考えている企業
- には本技術の導入が有効と思われる。

企業への貢献、PRポイント

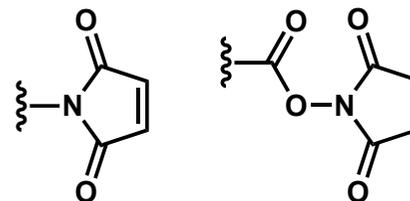
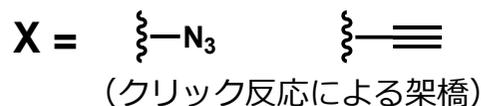
- 各種の光酸素化剤（架橋前）を提供することが可能
励起波長の異なるものや種々架橋法を利用できるものも提供可能
- リガンドを入手できれば、架橋体として提供することも可能
- さらに標的タンパク質が入手できれば、光酸素化の評価も可能



(700 nm 光で励起)



(500 nm 光で励起)



(チオールとの架橋) (アミンとの架橋)

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : シアニン化合物およびその用途
- 出願番号 : 特願2023-186693
- 出願人 : 東京薬科大学
- 発明者 : 林 良雄、谷口敦彦、岡本英之

お問い合わせ先

東京薬科大学

教学IR研究推進課

T E L 042-676-5349

e-mail sangaku-ml@toyaku.ac.jp