

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14873

研究課題名（和文）生体での精密制御を志向したPeT型光制御NOドナー群の開発

研究課題名（英文）Development of PeT-type NO donors aiming precise NO release control in vivo

研究代表者

家田 直弥（Ieda, Naoya）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（薬学）・助教

研究者番号：00642026

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：申請者がこれまで開発してきた黄緑色光制御NOドナーNO-Rosa5の構造を基に、光と酵素反応の2段階反応で制御可能なNOドナーNO-Rosa-Galを開発した。この化合物は β -ガラクトシダーゼの酵素反応によって光応答性が増大し、その後光照射によってNOを放出することをNO電極を用いて確認した。さらに、 β -ガラクトシダーゼを高発現させた細胞で、発現させていない細胞よりも選択的にNOを放出していることを確認した。本計画計画で得られた成果は生体においてより精度の高いNOの制御を可能にすると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体の中で血管を操るなど、重要な役割を担っているシグナル分子である一酸化窒素の発生をより精密に制御できる手法を確立した。その制御因子の一つとなる可視光は従来必要だった紫外光と比べ、毒性が低いため、より幅広い応用が期待できる。将来的には、がん細胞のみで機能し、がん細胞を殺す、様々な循環器系疾患を非侵襲的に治療するといった応用方法が期待される。

研究成果の概要（英文）：Based on the structure of the yellow-green light-controlled NO donor, NO-Rosa5, we developed a novel NO donor, NO-Rosa-Gal, which can be controlled by enzymatic and photochemical reaction. This compound was shown to be photo-responsive after the enzymatic reaction of β -galactosidase. Further, we found that NO-Rosa-Gal released much more NO in the cells expressing β -galactosidase than in the cells not-expressing β -Gal. These results gave some knowledge to enable more precise NO release in biological condition.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：一酸化窒素 光制御 酵素反応 2段階制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素 (NO; nitric oxide) は体内で生合成され、血管平滑筋に作用して血管弛緩を起こすシグナル分子である。その作用は非常に即時的かつ鋭敏であることから、NO を放出する化合物 (NO ドナー) であるニトログリセリンやニトロプルシドナトリウムは狭心症の発作時等の血圧のレギュレータとして臨床応用されている。他にも NO は高濃度で抗がん作用を示すことも報告されていることから、NO ドナーは新規作用機序の抗がん剤としても期待されている。

ところで、光は照射する時空間制御が容易であることから、光に応答して生理活性を発現する分子はオプターゲット効果や副作用の少ない新たな化学療法剤として期待されており、実際に光増感剤を用いた光線理学療法 (PDT; photodynamic therapy) がすでに臨床応用されている。また近年アメリカにおいて、700 nm の近赤外光に応答して細胞障害性を示すフタロシアニンに、がん細胞特異的な抗体を結合させたハイブリッド型分子の臨床試験が行われており、光免疫療法 (PIT; photoimmunotherapy) として開発が進んでいる。このように、光を応用した治療は化学療法における新たな手法として確立され始めている。

以上のような背景から、光に応答して NO を発生する光制御 NO ドナーも、血圧レギュレータもしくは新規抗がん剤として期待されている。しかし実際の臨床で PDT に用いる光源は、生体への干渉が少ない 600–800 nm の波長のものであるにも関わらず、600 nm 以上の光で制御可能な NO ドナーは、パルスレーザーを用いた二光子励起によるもの以外報告がない。また、PIT では薬剤に光以外の制御因子として部位特異性を付与するために抗体が利用されているように、光制御分子を用いた化学治療においては副作用をさらに低減するために、別の制御因子を組み込んだ分子設計が望まれている。

2. 研究の目的

上述したような背景から、NO の作用を *in vivo* で制御すること、および新たな化学療法剤として開発することを志向し、申請者がこれまで独自に開発してきた光制御 NO ドナーの設計を基に、600–800 nm の光で制御可能かつ、光以外の制御機構を組み込んだ光制御 NO ドナーを開発することを目的とする。

3. 研究の方法

申請者はこれまでの研究成果から、独自の光制御 NO ドナー群の構造活性相関を得ており、これらを基にして 2 段階制御 NO ドナーの開発を行う。まず、概念実証のために、NO 放出部位である *N*-nitrosoaminophenol の水酸基アルキル基で保護した化合物は NO 放出能が抑制されるという知見から、 β -galactose をこの水酸基にグリコシド結合させた化合物を合成し、 β -galactose と光照射の 2 段階反応によって NO 放出が制御できるかを検討する。次に β -galactosidase を高発現させた細胞を用いて、発現させていない細胞と比べて NO 放出が増加するかを、蛍光プローブを用いて観察する。

4. 研究成果

申請者がこれまで開発してきた黄緑色光制御 NO ドナー NO-Rosa5 の構造を基に、光と酵素反応の 2 段階反応で制御可能な NO ドナー NO-Rosa-Gal を開発した。この化合物は β -ガラクトシダーゼの酵素反応によって光応答性が増大し、その後光照射によって NO を放出することを、NO 電極を用いて確認した。さらに、 β -ガラクトシダーゼを高発現させた細胞で、発現させていない

細胞よりも選択的に NO を放出していることを確認した。本計画計画で得られた成果は生体においてより精度の高い NO の制御を可能にすると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ieda Naoya, Oka Yumina, Yoshihara Toshitada, Tobita Seiji, Sasamori Takahiro, Kawaguchi Mitsuyasu, Nakagawa Hidehiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Structure-efficiency relationship of photoinduced electron transfer-triggered nitric oxide releasers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1430
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-38252-5	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 Naoya Ieda, Yuji Hotta, Mitsuyasu Kawaguchi, Kazunori Kimura, Hidehiko Nakagawa	4. 巻 67
2. 論文標題 In cellulo and ex vivo availability of a yellowish-green-light-controllable NO releaser	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	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） なし	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17件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 岡由実奈、家田直弥、山内彩樺、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 -Galactosidaseおよび可視光による二段階制御型NOドナーの合成と機能評価
3. 学会等名 平成30年度生理学研究所研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 家田直弥
2. 発表標題 光誘起電子移動を駆使したケージドNO群の開発と生体応用
3. 学会等名 第2回「有用物質合成を加速する分子設計の新展開」に関する研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 家田直弥、奥野華、山内彩樺、堀田祐志、川口充康、木村和哲、中川秀彦
2. 発表標題 可視光で制御可能なNOドナー群の開発と生体応用
3. 学会等名 第71回日本酸化ストレス学会学術集会・第18回日本NO学会合同学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 家田直弥、岡由実奈、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 構造活性相関に基づく酵素-光2段階制御型NOドナーの合成と評価
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第13回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 家田直弥
2. 発表標題 酸化ストレス関連分子を光測定・制御するためのケミカルツール群の開発
3. 学会等名 フリーラジカルスクール2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoya Ieda, Hana Okuno, Ayaka Yakauchi, Yuji Hotta, Mitusyasu Kawaguchi, Kazunori Kimura, Hidehiko Nakagawa
2. 発表標題 Development of visible and near-infrared light controllable NO releasers and their application for photomanipulation of vasodilation
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 家田直弥、吉原利忠、飛田成史、笹森貴裕、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 光誘起電子移動駆動型NOドナーにおける光化学特性およびレドックスパラメータ解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡由実奈、家田直弥、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 酵素反応および可視光制御可能な二段階型NOドナーの開発と機能評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Ieda, Hana Okuno, Ayaka Yamauchi, Yuji Hotta, Mitsuyasu Kawaguchi, Kazunori Kimura, Hidehiko Nakagawa
2. 発表標題 Development of light-controllable nitric oxide releasing small compounds and biological application
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤大介、鈴木あゆみ、家田直弥、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 N-Methyl-N-nitrosoaminophenolとIr(Fppy) ₃ を含むナノ粒子の光応答性NO放出能の検討
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 家田直弥, 山内彩樺, 堀田祐志, 川口充康, 木村和哲, 中川秀彦
2. 発表標題 赤色光制御NOドナーの開発とin vivoでの血流系光制御
3. 学会等名 第72回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡由実奈、家田直弥、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 -Galactosidaseと光のdual lock型NO放出剤の開発
3. 学会等名 第65回日本薬学会東海支部 総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤大介、鈴木あゆみ、家田直弥、川口充康、中川秀彦
2. 発表標題 N-Nitrosoaminophenol 構造を有する化合物と色素を含むナノ粒子の光応答性NO放出能の検討
3. 学会等名 第65回日本薬学会東海支部 総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Ieda
2. 発表標題 Development of light-controllable NO releasers applicable for photomanipulation of vasodilation in vivo condition
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 家田直弥
2. 発表標題 血液の流れを自在に操る新しい光技術
3. 学会等名 イノベーションジャパン2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 家田直弥、山内彩樺、堀田祐志、川口充康、木村和哲、中川秀彦
2. 発表標題 赤色光制御NOドナーの開発とin vivoでの光血流制御
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 家田直弥、奥野華、山内彩樺、堀田祐志、川口充康、木村和哲、中川秀彦
2. 発表標題 In vitroからin vivoまで応用可能な可視光制御 NO ドナー群の開発
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ykg/Yakka/

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