

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「新機能創出を目指した分子技術の構築」
研究課題「超高感度化分子技術により実現する
巨視的ケミカルバイオロジー」

追加支援報告書

研究期間 2019年4月～2020年3月

研究代表者：山東信介
(東京大学大学院工学系研究科
教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本 CREST 研究では体の中の分子の構造変化、化学反応、ダイナミズムなどの活動を、体を傷つけずに計測できる生体計測系の確立に向け、NMR 分子プローブの感度を理論上数千～数万倍程度も高感度化できる核偏極法を用いた高感度—核磁気共鳴分子技術(核偏極 NMR)の構築を目的とした。特に、「高感度化寿命の短さ」の克服に向け、核偏極緩和と分子構造の相関を明確化するとともに、長寿命核偏極を実現する分子構造を探索し、生体計測への応用を目指している。

本追加支援では、CREST 研究の成果を発展させ、構築した分子技術の生物個体応用に向けた展開研究を進めた。目標の実現に向けて、当初から設定していた下記の 4 つのサブテーマ(1~3:核偏極を用いた超高感度分子センシング、4:核偏極以外の技術も含めた発展的課題)を継続して実施した。それぞれについて得られた結果の概略は下記の通りである。

サブテーマ 1: 長寿命核偏極を実現する分子構造の探索

- ✓ 長い縦緩和時間(T_1 , 核偏極寿命に相関)を維持しつつ、環境に応答して物理化学的パラメーターを変化させる環境応答性分子骨格の探索を実施し、候補となる分子を得た。

サブテーマ 2: 超高感度磁気共鳴分子プローブの開発

- ✓ 癌の増殖・悪性度に関連するアミノペプチダーゼ N (APN) を標的とする核偏極分子プローブの開発に成功した。既報告の APN 標的核偏極分子プローブ (Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 1765-1768) に比して、極めて早い酵素応答を示す。

サブテーマ 3: 個体応用に向けた機器開発と個体イメージング応用

- ✓ サブテーマ 1 で開発してきた生物個体に応用可能な低毒性 ^{15}N 分子骨格を用い、腫瘍内においても長寿命核偏極シグナルが計測できることを実証した。また、特徴的な環境応答性分子物性を利用した生体環境計測が可能であることを示す予備データを得た。
- ✓ 国際共同研究を中心に、サブテーマ 2 で開発した新たな核偏極分子プローブの生体応用を実施。APN を標的とする核偏極 MRI 分子プローブを用い、疾患モデルマウスを用いた *in vivo* における APN 活性計測を実現した。

サブテーマ 4: [発展]最先端計測技術、分子動態制御技術

- ✓ 分子動態制御技術として検討してきた「特定の細胞膜受容体を認識する分子ツール」をもとに、人工細胞増殖因子が設計でき、実際に *vivo* 応用可能であることを示した。加えて、精密な生体・細胞分子認識に向けた新たな分子骨格の開発を進めた。

(2) 顕著な成果

<優れた分子技術としての特筆すべき成果>

1.

概要: 本 CREST 研究では、極めて長い核偏極寿命を有する水溶性分子骨格の開発を実現している。また、構造多様化によって、生体応用可能な長寿命核偏極分子構造の開発に成功している。実際に、生物個体(腫瘍モデル含む)において高感度化された核偏極 ^{15}N NMR シグナルの長時間計測に成功した。また、本分子骨格を用いた高感度生体環境変動計測の可能性を示す予備実験データを得た。動的な生体分子イメージングへの道を拓く基盤分子プローブ骨格と期待できる。(未発表のため詳細な構造は割愛)

2.

概要: 生体酵素アミノペプチダーゼ N (APN) は、血管新生に関与し、腫瘍増殖にも関連する重要な疾患酵素である。現在までに、APN を標的とする核偏極 NMR 分子プローブを報告していたが (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1765-1768)、実際の *vivo* 応用には至っていない。今回、有機合成化学、分子設計、ケミカルバイオロジーの力を駆使して、分子プローブを発展させ、従来報告されている分子プローブに比して、圧倒的に速く酵素に応答する分子プローブを開発することに成功した。(未発表のため詳細な構造は割愛)

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1.

概要: 本 CREST 研究で開拓した分子設計法、有機化学、ケミカルバイオロジーの知見をもとに、腫瘍などの疾患状態に関与する重要生体酵素アミノペプチダーゼ N (APN) を標的とする核偏極分子プローブの開発に成功した。開発した分子プローブは、従来報告されている APN 標的核偏極分子プローブに対して極めて早い応答速度をもつ。実際、国際共同研究において、開発した核偏極分子プローブが *in vivo* でも機能し、生体 APN 活性を計測できることを示した。疾患関連代謝イメージングに向けて新産業の創出につながる可能性を持つ次世代分子プローブである。

2.

概要: セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (SHMT) は、セリン→グリシン代謝を担う酵素であり、重要な 1 炭素代謝経路の起点となる酵素である。また、その阻害剤は抗腫瘍薬や抗マalaria 役として期待されている。既に、SHMT を高感度に検出する分子プローブの開発に成功し、阻害剤候補の探索にも成功している (*Nat. Commun.* **2019**, *10*, 876)。更に本研究を発展させ、様々な SHMT-高感度検出用分子プローブを開発した。また、既に得られた阻害剤候補化合物と SHMT の共結晶構造解析に成功し、その分子レベルでのメカニズム解析を実現した。新たな阻害剤・薬剤探索への応用を可能にする成果である。

< 代表的な論文 >

1. Marino Itoda, Yuki Naganawa, Makoto Ito, Hiroshi Nonaka, and Shinsuke Sando
"Structural exploration of rhodium catalysts and their kinetic studies for efficient parahydrogen-induced polarization by side arm hydrogenation"
RSC Advances **2019**, *9*, 18183-18190.

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 山東グループ

- ・ 研究代表者: 山東信介 (東京大学大学院工学系研究科 教授)
- ・ 研究項目
 - 長寿命核偏極を実現する分子構造の探索
 - 超高感度磁気共鳴分子プローブの開発
 - 個体応用に向けた機器開発と個体イメージング応用(平成 27 年度以降)
 - [発展]最先端計測技術、分子動態制御技術

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

開発した超高感度分子プローブの生物個体展開・医学応用・正確な評価においては、生体分子イメージングを専門とする医学・生物学研究者との共同研究が必要である。核偏極—生物個体イメージングを実施している医学・生物学研究者との共同研究を積極的に進めており、海外研究者との共同研究ネットワークの構築につながっている。

Prof. Arnaud Comment and Dr. Hikari Yoshihara of École polytechnique fédérale de Lausanne & General Electronics

核偏極 ^{13}C 分子プローブの生物個体応用に関する共同研究。

[既発表の共同研究] GGT 活性—生体内リアルタイムイメージング

Angew. Chem. Int. Ed. **2016**, *55*, 10626-10629.

Prof. Charlie Khemtong of University of Texas Southwestern Medical Center

長寿命核偏極分子プローブの評価、及び生物個体応用に関する共同研究。

[既発表の共同研究] 長寿命核偏極 ^{13}C 分子プローブの開発研究

Chem. Asian. J. **2018**, *13*, 280-283.

Dr. Murali Krishna Cherukuri of National Cancer Institute, National Institute of Health

核偏極 ^{13}C , ^{15}N 分子プローブ、長寿命核偏極分子プローブの生物個体応用に関する共同研究。

Prof. Sabrina Ronen of University of California San Francisco

核偏極 ^{13}C 分子プローブの医学応用検討に関する共同研究。

[国内研究者とのネットワーク形成]

- ・ 核偏極に関して、理研仁科加速器研究センターの上坂スピン・アイソスピン研究室(上坂友洋主任研究員)と協働している。
- ・ 生体分子イメージング応用に関して、量子科学技術研究開発機構の青木伊知男博士と協働している。