



Tokyo Tech



平成 28 年 6 月 13 日

報道機関各位

東京工業大学

電気通信大学

## 体の深部を探る世界初の近赤外発光基質を開発

ー生体発光イメージングの感度を飛躍的に高め、創薬研究の推進に貢献ー

### 【要点】

- 発光酵素ホタルルシフェラーゼと反応して近赤外光を産生する基質<sup>(注1)</sup>を開発
- マウス腫瘍モデルを用いた実験で最大 40 倍検出感度を上げることに成功
- 疾患の新規治療法や新薬の開発に貢献できる

### 【概要】

東京工業大学の口丸高弘助教と近藤科江教授らは、電気通信大学の牧昌次郎助教と丹羽治樹教授らと共同で発光酵素ホタルルシフェラーゼ（以下、F-Luc）<sup>(注2)</sup>の基質の開発を行い、体内深部からの発光シグナルを感度良く観察することができる近赤外光を産生する実用的な基質 Aka-HCl の開発に世界で初めて成功した。F-Luc を用いた発光イメージングは、世界標準の光イメージング技術で、小動物を用いた創薬研究には不可欠な技術となっている。しかし、自然界に存在する F-Luc の発光基質<sup>(注3)</sup> D-ルシフェリン(以下、D-luci)<sup>(注4)</sup>は、組織透過性が乏しい可視光領域の光を産生するため、これまで体内深部の観察には限界があった。また、これまでに開発された近赤外発光<sup>(注5)</sup>を産生する基質は、産生する光が極端に弱かったり、水溶性が乏しく生体に応用できなかつたり、F-Luc の変異体にしか反応しなかつたりして、実用的ではなかつた。今回開発した基質 Aka-HCl は、水溶性にも優れ、マウスを用いた実験で D-luci よりも最大 40 倍高い検出感度を示し、近赤外光を産生できる世界初の実用的な基質である。この基質を利用することで、これまでの方法では検出されなかつた小さな病変の観察が可能になるため、新規治療法や新薬の開発への貢献が期待できる。本成果は、ネイチャー・パブリッシング・グループのオンラインジャーナル Nature Communications に 6 月 14 日に掲載される。

## ●研究成果

このたび開発に成功した基質 Aka-HCl は、水溶性に優れ、毒性も無く、効率よく近赤外光を産生する (図1)。D-luci や、同じく可視光に発光ピークをもつ改良型 D-luci の CycLuc1 と比較すると、F-Luc と反応して産生する発光の組織透過性の高い事が牛肉スライス (厚さ 4 mm, 8 mm) を用いた実験で示された (図2)。

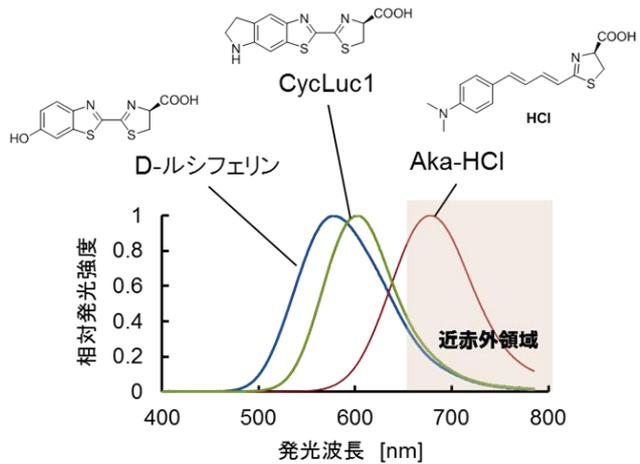


図1 F-Lucと各基質との発光スペクトル

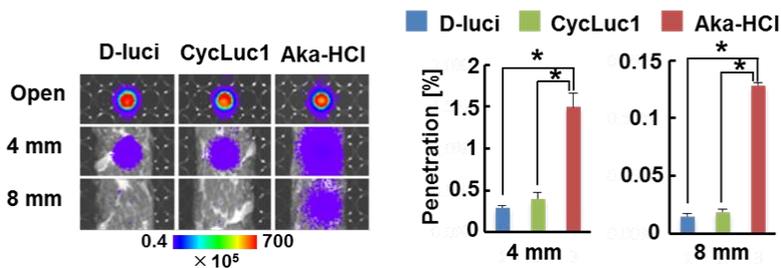


図2 牛肉スライスを用いた組織透過性評価

【図2の説明】マルチウェルプレートにF-Lucと各基質を入れて、その上から図に示した厚みの牛肉スライスに乗せて、牛肉を透過してくる光を上部からイメージング (左) し、透過光の強度を測定した (右)。

さらに、生体内深部の発光シグナルの検出感度を検証するために、検出が特に難しい肺がんモデルマウスを用いてイメージングを行ったところ、他の基質に比べて極めて高い感度で肺がんを検出することができた (図3)。

このように、今回開発した基質は、野生型の F-Luc と反応して近赤外領域の光を産生することができ、現在汎用されている基質と比較しても、組織透過性に優れ、体内深部からのシグナルを感度良く検出することを可能にした。

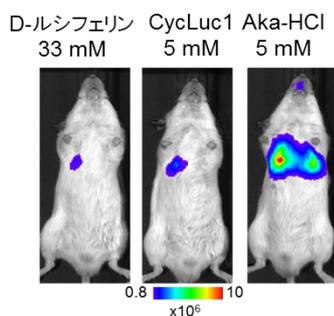


図3 肺がんの可視化

【図3の説明】F-Lucを発現するがん細胞を移植した肺がんモデルマウスに、各基質を図に示した濃度で投与した後、発光イメージングでがん細胞を可視化した。

## ●背景

生体発光イメージングは、小動物を対象に 2000 年頃から普及し始めた非侵襲的画像技術で、F-Luc とその天然基質である D-luci との組み合わせで産生される 562 nm にピークをもつ可視領域の光を利用している。生体発光イメージングは、疾患モデルマウスや腫瘍モデルに汎用されており、この組み合わせが、世界標準として、創薬研究や基礎医学研究には不可欠なものとなっている。

しかし、可視領域の光は、体内に多く存在するヘモグロビンやメラニンなどにより吸収されるため、組織透過性に乏しく、非侵襲的な観察には限界があり、より感度の良い発光イメージング技術の開発が望まれていた。近赤外光は、体内で吸収されにくく、組織透過性に優れているため、体の深部にあるシグナルを体外から感度良く観察することを可能にする。そのため、体に傷をつけずに、生体内を観察する次世代の診断技術開発において注目されている。

## ●研究の経緯

D-luci を改変して近赤外光を産生する基質は、これまでも開発されていたが、生体への応用には課題が多く、実用的な基質として使えるものは無かった。その理由は、基質を合成する研究者と生体内での有効性を評価する研究者が共同で開発してこなかった事が大きな要因である。今回我々は、F-Luc と反応して、近赤外領域に発光のピークを示す D-luci の誘導体を電通大で合成し、それらの生体イメージングでの有用性を、F-Luc を発現するがん細胞を移植した腫瘍モデルマウスを用いて、東工大で評価することで、効率よく目的の基質開発に繋げることができた。

## ●今後の展開

今回開発した近赤外光を産生する基質は、既存の F-Luc の遺伝子改変マウス<sup>(注6)</sup>や遺伝子導入細胞を用いた実験系に広く応用可能である。これまでよりも高い感度で体内深部の観察を可能にするため、広範な研究分野で、研究の推進に貢献できると期待される。今回開発した基質 Aka-HCl は、TokeOni (808350-5MG) という名称で Sigma-Aldrich (米国ミズーリ州セントルイス市)より販売されている。

<http://www.sigmaaldrich.com/japan/materialscience/biomaterials/tokeoni.htm>

### 【用語説明】

- (注1) **基質**：「酵素」と特異的に反応する化合物を「基質」という。ルシフェラーゼが「酵素」で、ルシフェリン、CycLuc1、Aka-HCl が「基質」となる化合物。
- (注2) **ホタルルシフェラーゼ(F-luc)**：北米産ホタルから単離された酵素で、ATP(アデノシン三リン酸)、マグネシウムイオン存在下で基質であるルシフェリンの酸化反応（発光反応）を触媒する。
- (注3) **発光基質**：発光酵素と反応して光を産生する化合物
- (注4) **D-ルシフェリン**：ホタルルシフェラーゼと反応して光を産生する発光基質（化合物）
- (注5) **近赤外発光**：650 nm より長波長側にピーク波長を有する生物発光。
- (注6) **遺伝子改変マウス**：特定の遺伝子が全身組織細胞もしくは特定の組織細胞に組み込まれている、または、変異導入されているマウス。

### 【研究サポート】

この研究は、新学術領域「がん微小環境ネットワークの統合的研究」および、JST・A-STEP（ハイリスク挑戦）の支援を受けて実施した。

### 【論文情報】

掲載誌： Nature Communications  
論文タイトル： A luciferin analog generating near-infrared bioluminescence achieves highly sensitive deep-tissue imaging  
著者： Takahiro Kuchimaru, Satoshi Iwano, Masahiro Kiyama, Shun Mitsumata, Tetsuya Kadonosono, Haruki Niwa, Shojiro Maki, Shinae Kizaka-Kondoh  
DOI： 10.1038/NCOMMS11856.

**【問い合わせ先】**

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系  
近藤 科江 教授

E-mail: skondoh@bio.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5800

FAX: 045-924-5800

電気通信大学 大学院情報理工学研究科 基盤理工学専攻 化学生命工学プログラム／脳科学ライフサポート研究センター

牧 昌次郎 助教

E-mail: s-maki@uec.ac.jp

TEL: 042-443-5493

**【取材申し込み先】**

東京工業大学 広報センター

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975

FAX: 03-5734-3661

電気通信大学 総務課広報係

Email: kouhou-k@office.uec.ac.jp

TEL: 042-443-5019

FAX: 042-443-5887