

**2024年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」
調査研究報告書(公開版)**

【研究題目】

低酸素化環境に適応したがん細胞を標的とした光線力学的治療へ～作用機序の解明と輸送分子の開発～

Toward Photodynamic Therapy Targeting Cancer Cells Adapted to Hypoxic Environments -
Elucidation of Mechanism of Action and Development of Transport Molecules

【整理番号】 24-筑波大6

【代表機関】 筑波大学

【調査研究代表者(氏名)】 百武 篤也

【TIA 内連携機関:連携機関代表者】 川上 亘作(NIMS)

【TIA 内連携機関】 山崎 智彦(NIMS)

【TIA 外連携機関】

【報告書作成者】 百武 篤也

【報告書作成年月日】 2025 年 3 月 28 日

【連携推進(具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等)】

本調査研究では、「低酸素とがん」の課題解決を目的とし、次世代の光線力学療法(Photodynamic therapy, PDT)の新たな光増感剤の作用機序の解明、低酸素環境下での細胞実験系の確立、および薬剤送達システムの開発に取り組んだ。昨年度の研究で得られた①光増感剤 Pheophorbide *a* (Phed *a*)の水中での光物理特性および反応中間体の解明、② Phed *a* および PPIX のアルキル誘導体の合成、③光増感剤のナノ粒子への取り込み、④低酸素環境下での光細胞毒性効果の基礎データをもとに、本年度はさらなる研究を推進した。

研究は筑波大学の百武、NIMS の川上および山崎を中心に進め、定期的に非公開の研究会を開催し、研究成果の議論や共同研究の計画立案を行った。本研究に基づき、「酸素を必要としないがんの光治療へ～作用機序の解明から輸送分子の開発まで～」の研究課題名で科研費基盤研究(B)に応募した。本年度の採択には至らなかったものの、本研究の知見を活かし、さらなる応用研究の展開を計画している。特に、光増感剤の細胞内送達システムの最適化や低酸素環境下での治療メカニズムの解明を深め、次年度以降の競争的資金獲得を目指す。

また、本調査研究のまとめとして、以下の会議を開催した。

「低酸素環境下の光線力学療法(PDT)効果を強化するナノマテリアル開発」に向けた会議1

- ・開催日時: 2024年8月1日 13:00
- ・開催場所 NIMS 千現研究本館居室棟 6F セミナー室
- ・出席者: 百武篤也(筑波大)、川上亘作(NIMS)、山崎智彦(NIMS)、正角優吏(筑波大)
- ・会議目的: 今調査研究用の低酸素下での実験装置のセットアップの報告と使用方法の説明、ナノ粒子作成についての打ち合わせ、その他今後の研究方針の立案

「低酸素環境下の光線力学療法(PDT)効果を強化するナノマテリアル開発」に向けた会議2

- ・開催日時: 2024年12月9日 13:00
- ・開催場所 Zoom オンライン開催
- ・出席者: 百武篤也(筑波大)、川上亘作(NIMS)、山崎智彦(NIMS)、正角優吏(筑波大)
- ・会議目的: 研究成果の報告および今後の研究方針の立案

「低酸素環境下の光線力学療法(PDT)効果を強化するナノマテリアル開発」に向けた会議3

- ・会議目的: 研究成果の報告および今後の研究方針の立案
- ・開催日時: 2025年3月17日 17:30
- ・開催場所: NIMS 千現研究本館居室棟 6F セミナー室
- ・出席者: 百武篤也(筑波大)、山崎智彦(NIMS)、正角優吏(筑波大)
- ・会議目的: 研究成果の報告および今後の研究方針の立案

本研究課題は、「固形がんの深部の低酸素環境下のがん細胞を、赤色光で破壊する」という社会的意義を持ち、今後も研究継続に向けた予算獲得を目指す。

【調査研究内容(実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果)】

背景・課題:

光線力学療法(PDT)は、がん細胞を標的とした低侵襲治療法であり、副作用が少なく、薬剤耐性の影響を受けにくい点から、次世代のがん治療戦略として注目されている。しかし、従来の PDT では活性酸素種(Reactive Oxygen Species, ROS)を介した細胞死が主な作用機序であり、酸素供給の乏しいがん組織では治療効果が著しく低下する課題があった。

本研究では、この課題を克服するため、天然由来の光増感剤 Phed *a* の酸素非依存的な DNA 切断能に着目し、低酸素環境下でも機能する新規光治療戦略の確立を目指した。さらに、Phed *a* の類縁体である Pyropheophorbide *a* (Pyro *a*)も研究対象とし、その PDT 効果を評価した。

課題解決の内容と結果:

1. 光増感剤 Phed *a* の反応機構の解明

Phed a の低酸素環境下での DNA 切断メカニズムを解明するため、電子スピン共鳴 (ESR) を用いた解析を行った。その結果、酸素濃度に依存せず DNA 切断が起こることを確認し、新たな酸素非依存的メカニズムを提案した。この成果は、*ChemBioChem* 誌に報告した。

2. 光増感剤の水溶化およびナノ粒子化

Phed a および Pyro a は水溶性が低いため、ナトリウム塩化処理による水溶化手法を確立し、安定した水溶液の調製に成功した。また、光増感剤の細胞内送達を向上させるため、ナノ粒子の作成を試みた。昨年度の取り込み効率の低い試みとは異なり、本年度はより安定したナノ粒子内への取り込みに成功し、吸収スペクトルの解析から光増感剤の凝集が解けた状態で存在することを確認した。

3. 低酸素環境下での光細胞毒性試験

本調査研究では、低酸素環境下 (酸素濃度 3%) での光細胞毒性試験系を確立し、ヒト肺癌細胞 A549 を用いて PDT 効果を評価した。酸素濃度に関わらず、Pyro a が Phed a よりも優れた光細胞毒性を示し、LDH アッセイでも細胞膜破壊効果が確認された。この結果は、**低酸素環境下でも Pyro a が光治療に有効であることを世界で初めて示したものであり、新たな酸素非依存的 PDT 戦略の可能性を示唆する重要な発見である。**

【今後の活動予定】

本調査研究により、低酸素環境下における新規光増感剤の有効性が示され、従来の PDT の課題であった酸素依存性を克服する可能性が示唆された。特に、Pyro a の新たな作用機序を発見したことは、がん治療の革新につながる重要な成果である。

今後は、光増感剤の作用機序の詳細な解析を進めるとともに、動物モデルでの評価を行い、実用化に向けた検討を進める。低酸素環境下のがん治療という社会的に重要な課題に取り組む本研究の発展には、さらなる研究支援が不可欠であり、次年度以降も継続的な研究資金の獲得を目指す。

主な発表論文 (下線: 代表者、下破線: 参画者)

- (1) Okamoto, C.; Kotani, H.; Kojima, T.; Yamamoto, Y.; Momotake, A. Mechanistic Insights into Oxygen-Independent DNA Photodegradation by Pheophorbide a: Implications for Future Photodynamic Therapy Applications. *ChemBioChem* **2025**, 26 (4), 1–6. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400781>.
- (2) Odahara, Y.; Momotake, A.; Syokaku, Y.; Yamamoto, Y. Catalytic and Selective Red Light-Triggered Photodegradation of a G-Quadruplex DNA by a Zinc (II) Phthalocyanine. *ChemBioChem* **2024**, 25 (17), 1–7. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400197>.
- (3) Cui, Y.; Zhang, L.; Liu, J.; Zhang, T.; Sugahara, A.; Momotake, A.; Yamamoto, Y.; Mao, Z.; Tai, H. Hydrogen Evolution of a Unique DNAzyme Composed of Cobalt-Protoporphyrin IX and G-Quadruplex DNA. *ChemSusChem* **2024**, 17 (1), e202301244. <https://doi.org/10.1002/cssc.202301244>.

- (4) Pathak, S.; Le, N. B. T.; Oyama, T.; Odahara, Y.; Momotake, A.; Ikebukuro, K.; Kataoka-Hamai, C.; Yoshikawa, C.; Kawakami, K.; Kaizuka, Y.; Yamazaki, T. Immunostimulatory Effects of Guanine-Quadruplex Topologies as Scaffolds for CpG Oligodeoxynucleotides. *Biomolecules* **2025**, 15 (1), 95.
<https://doi.org/10.3390/biom15010095>.
- (5) Kawakami, K.; Ohyama, K. Crystal Nucleation in Ibuprofen Glass: Possible Relevance between Characteristic Length of Cooperatively Rearranging Region and Size of Crystal Nuclei. *J. Phys. Chem. B* **2025**, 129 (7), 2096-2104.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.4c07005>.

学会発表

- (1) Soumitra Pathak, Nguyen Bui Thao Le, Yusuke Odahara, Atsuya Momotake, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro, Tomohiko Yamazaki, A comparative study between three topologies of guanine-quadruplex forming CpG oligodeoxynucleotides to evaluate their potency as vaccine adjuvants, 第 40 回 日本 DDS 学会学術集会, Eng1-G-27
- (2) 正角 優吏, 山崎 智彦, 川上 亘作, 百武 篤也, 酸素非依存的に DNA を光分解する光増感剤の応用に関する研究, 第 18 回 バイオ関連化学シンポジウム, [1P-80]
- (3) 高嶋 泰帆, 岡本 千奈, 百武 篤也, 仲里 正孝, 山本 泰彦, 小林 正美, 簡便かつ迅速な Zn 置換クロロフィル誘導体の調製方法の開発, 第 18 回 バイオ関連化学シンポジウム, [1P-85]
- (4) 百武 篤也, 本間 詩織, 小田原 祐介, フタロシアニン系光増感剤による四重鎖核酸の分子認識および光分解, 第 18 回 バイオ関連化学シンポジウム, [2OB-05]
- (5) 山崎 智彦, PATHAK Soumitra, 百武 篤也, 池袋 一典, パラレル型グアニン四重鎖構造のループに CG 配列を導入した免疫活性化 CpG オリゴデオキシヌクレオチドの特性, 第 18 回 バイオ関連化学シンポジウム, [2P-59]
- (6) 百武 篤也, 岡本 千奈, 小林 正美, 山本 泰彦, 亜鉛(II)フェオフォルバインド a と四重鎖 DNA との相互作用, 日本化学会 第 105 春季年会 (2025), [[A]D401-1pm-04]
- (7) 川上 亘作, 消化管内コロイドに可溶化された薬物の膜透過, 第 75 回コロイドおよび界面化学討論会, [1A05]
- (8) Kohsaku Kawakami, Establishing a Harmonized Physicochemical Profiling Platform for Therapeutic Oligonucleotides, AAPS2024 PharmSci360.