

|      |       |
|------|-------|
| 課題番号 | LS096 |
|------|-------|

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

|                |   |
|----------------|---|
| 研究課題名          | 血管新生を誘導する siRNA とナノ薬物送達法による革新的な低侵襲性治療法の創成 |
| 研究機関・<br>部局・職名 | 佐賀大学・医学部・教授                               |
| 氏名             | 寺本 憲功                                     |

1. 当該年度の研究目的

|  |
|--|
| <p>○ RNA/DNA キメラ型 siRNA を含むハイブリッド型ナノバブルの開発を目的とする。</p> <p>体液(血液や漿液)中にて RNA/DNA キメラ型 siRNA が分解され難いハイブリッド型ナノバブルの完成を目指す。本キメラ型 siRNA とナノバブルの両者をナノメートルサイズのリボソーム中に内包した構造のハイブリッド型ナノバブルを作成し、体内での siRNA の分解の軽減を図る。脂質二重膜の内側は液相のため、キメラ型 siRNA は長時間、安定した状態にて保存される。ハイブリッド型ナノバブルによるキメラ型 siRNA の保護効果の評価は作製した siRNA 内包型ナノバブルをヌクレアーゼ処理し、電気泳動法を用いた泳動度の大きさにて核酸の分解程度を判定する。</p> <p>○ 血管新生作用の強い siRNA のスクリーニングを行うことを目的とする。</p> <p>off-target 効果を減弱させ、血管新生効果を有する siRNA の配列設計することを目的に RNAi 解析に優れた技術を有するボナック社(福岡県久留米市)へキメラ型 siRNA を外注し、その血管新生作用について遺伝子レベルで詳細に解析を進めることを研究目的とする。</p> |
|--|

2. 研究の実施状況

|   |
|---|
| <p>受託研究会社と共同にて転写因子(integration サイトの遺伝子座の6番目の遺伝子を修飾する)、Int6 を薬物標的とした40種類の siRNA を設計した。その中から独自のアルゴリズムにて Int6 に対して解析し、抑制効果を有すると考えられる10種類の siRNA を合成・精製した。それらの siRNA を培養細胞(筋肉系および非筋肉系細胞)に対して導入し、遺伝子および細胞レベルでの実験系(分子生物学的手法:RT-PCR 法、ウエスタンブロット法等)にて詳細に解析を進めた。その結果、特に強い血管新生効果を有する2種類の siRNA を見出した。これら2種類の siRNA は両者とも濃度依存적および時間依存的に多くの血管新生誘導因子(VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, PDGF: Platelet-Derived Growth Factor 等)を遺伝子レベルにて有意に増大させていた。すなわち、Int6 は正常血管新生のマスタースイッチの一つであり、Int6 を特異的にノックダウンする siRNA を投与して Int6 の発現を著しく低減させ、その結果、主に低酸素誘導因子(hypoxia inducible factor: HIF)のサブタイプの一つ、HIF-2<math>\alpha</math>が hypoxia-related element(HRE)に作用し、血管新生関連因子の転写促進を引き起こす機序にて新生血管を誘導・産生することが可能であると考えられた。</p> <p>またソノポレーション法の超音波の周波数および振幅を調節し、GFP 遺伝子を低侵襲性に培養細胞に導入し、GFP 発光量を基準とし、培養細胞に対してのソノポレーション法の条件設定を確定した。</p> |
|---|

様式19 別紙1

3. 研究発表等

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 雑誌論文                     | (掲載済みー査読有り) 計0件   |
| 計0件                      | (掲載済みー査読無し) 計0件<br><br>(未掲載) 計0件  |
| 会議発表                     | <p>専門家向け 計6件</p> <p>① 寺本 憲功<br/>「食品送達に関するトピック～消化管の蠕動運動～」<br/>東京・平成23年5月30日・日本動物細胞工学会</p> <p>② 寺本 憲功, 岩佐 憲臣, 伊東 啓行, 小玉 哲也, 前原 喜彦<br/>ソノポレーション法とチャネル遺伝子を用いた末梢循環障害の新規治療法の確立<br/>東京・平成23年9月11～14日・日本機械学会</p> <p>③ 久留 和成, 寺本 憲功<br/>「脳幹 GLP-1 分泌細胞におけるアドレナリン受容体を介した興奮性シナプス入力解析」<br/>福岡・平成23年11月20日・日本薬理学会</p> <p>④ 鬼頭 佳彦, 寺本 憲功<br/>「プリン作動性神経によるウサギ小腸自発活動の制御機構」<br/>福岡・平成23年11月20日・日本薬理学会</p> <p>⑤ 久留 和成, 寺本 憲功<br/>「GLP-1 分泌神経細胞におけるアドレナリン作動性神経を介した CCK 興奮性作用」<br/>京都・平成24年3月14～16日・日本薬理学会</p> <p>⑥ 鬼頭 佳彦, 寺本 憲功<br/>「ラット結腸輪走筋の収縮反応に対する半夏瀉心湯および桂枝加芍薬湯による抑制効果の比較解析」<br/>京都・平成24年3月14～16日・日本薬理学会</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>① 寺本 憲功<br/>「血管新生を誘導する siRNA とナノ薬物送達法による革新的な低侵襲性治療法の創成」<br/>福岡・平成24年2月28日・九州大学最先端・次世代研究開発支援プログラム研究発表会</p> |
| 図書                       | 特記事項はありません。   |
| 計0件                      |   |
| 産業財産権<br>出願・取得状<br>況     | (取得済み) 計0件<br><br>(出願中) 計0件   |
| 計0件                      |   |
| Webページ<br>(URL)          | <a href="http://www.pharmacology.med.saga-u.ac.jp/YAKURIHP/Top_Page.html">http://www.pharmacology.med.saga-u.ac.jp/YAKURIHP/Top_Page.html</a>   |
| 国民との科<br>学・技術対話<br>の実施状況 | <p>地域のみならず一般向けに科学・技術の対話を実施し、サイエンスを啓蒙した。</p> <p>① 「医学への扉 ～最先端・次世代の薬物治療法～」<br/>(実施日)平成23年9月17日<br/>(場所) 佐賀大学 教養教育1号館 (対象者) 佐賀大学文化教育学部附属中学校生 (参加者) 120名<br/>(内容) 地元の附属中学校の生徒を対象に「科学」の面白さを伝え、科学離れが激しいとよばれる世代を啓蒙し、本プログラム内容について分かりやすく講演した。</p> <p>② 「血管新生を誘導する siRNA とナノ薬物送達法による革新的な低侵襲性治療法の創成」<br/>(実施日)平成24年2月28日<br/>(場所) アクロス福岡 (対象者) 一般人 (参加者) 200名<br/>(内容) 本プログラムの研究内容について一般向けレベルにて分かりやすく講演し、広く討議に応じ、国民に向けて情報を発信した。</p>  |

様式19 別紙1

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <p>新聞・一般雑誌等掲載<br/>計 3 件</p> | <p>① 大学の授業をうけてみよう<br/>佐賀大学文化教育学部附属中学校<br/><a href="http://www.fuchu.pd.saga-u.ac.jp/wp-content/uploads/2012/01/H23_daigakujugyou.pdf">http://www.fuchu.pd.saga-u.ac.jp/wp-content/uploads/2012/01/H23_daigakujugyou.pdf</a></p> <p>② 最先端・次世代研究開発支援プログラム研究発表会の報道<br/>九州大学<br/><a href="http://www.kyushu-u.ac.jp/topics/index_read.php?kind=&amp;S_Category=&amp;S_Page=&amp;S_View=&amp;word=&amp;page=&amp;B_Code=4355">http://www.kyushu-u.ac.jp/topics/index_read.php?kind=&amp;S_Category=&amp;S_Page=&amp;S_View=&amp;word=&amp;page=&amp;B_Code=4355</a></p> <p>③ 最先端・次世代研究開発支援プログラム研究発表会の報道<br/>産学官の道しるべ<br/><a href="http://sangakukan.jp/event/right_contents/event/detail.php?eid=2436">http://sangakukan.jp/event/right_contents/event/detail.php?eid=2436</a></p> |
| <p>その他</p>                  | <p>特記事項はありません。</p>  |

4. その他特記事項

特記事項はありません。

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

|      | ①交付決定額      | ②既受領額<br>(前年度迄の<br>累計) | ③当該年度受<br>領額 | ④(=①-②-<br>③)未受領額 | 既返還額(前<br>年度迄の累<br>計) |
|------|-------------|------------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| 直接経費 | 114,000,000 | 45,000,000             | 0            | 69,000,000        | 0                     |
| 間接経費 | 34,200,000  | 13,500,000             | 0            | 20,700,000        | 0                     |
| 合計   | 148,200,000 | 58,500,000             | 0            | 89,700,000        | 0                     |

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

|      | ①前年度未執<br>行額 | ②当該年度受<br>領額 | ③当該年度受<br>取利息等額<br>(未収利息を除<br>く) | ④(=①+②+<br>③)当該年度<br>合計収入 | ⑤当該年度執<br>行額 | ⑥(=④-⑤)<br>当該年度未執<br>行額 | 当該年度返還<br>額 |
|------|--------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|--------------|-------------------------|-------------|
| 直接経費 | 41,861,004   | 0            | 0                                | 41,861,004                | 41,803,658   | 57,346                  | 0           |
| 間接経費 | 12,450,000   | 0            | 0                                | 12,450,000                | 12,450,000   | 0                       | 0           |
| 合計   | 54,311,004   | 0            | 0                                | 54,311,004                | 54,253,658   | 57,346                  | 0           |

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

|         | 金額         | 備考                    |
|---------|------------|-----------------------|
| 物品費     | 37,921,870 | 冷却遠心機、顕微鏡、対物レンズ、実験試薬等 |
| 旅費      | 795,900    | 学会参加旅費等               |
| 謝金・人件費等 | 2,952,448  |                       |
| その他     | 133,440    | 実験機器修理費、学会参加費等        |
| 直接経費計   | 41,803,658 |                       |
| 間接経費計   | 12,450,000 |                       |
| 合計      | 54,253,658 |                       |

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

| 物品名   | 仕様・型・性能<br>等                       | 数量 | 単価<br>(単位:円) | 金額<br>(単位:円) | 納入<br>年月日  | 設置研究機関<br>名 |
|---|------------------------------------|----|--------------|--------------|------------|-------------|
| 多本架冷却遠心機  | トミー工業(株)<br>AX-320                 | 1  | 1,436,925    | 1,436,925    | 2011/7/5   | 佐賀大学        |
| マイクロミニピュ<br>レータシステム                               | 米国サッター社<br>MPC-385-2               | 1  | 3,165,750    | 3,165,750    | 2011/7/15  | 佐賀大学        |
| ゲル撮影装置(プリ<br>ントグラフ)                               | アトー(株)<br>AE-6932GXES-U            | 1  | 945,000      | 945,000      | 2011/7/15  | 佐賀大学        |
| 16bit multi-Channel<br>Data Acquisition<br>System | 独国HEKA社<br>InstruTECH LIH<br>8+8   | 1  | 997,500      | 997,500      | 2011/7/22  | 佐賀大学        |
| リアルタイム血流画<br>像化装置                                 | 英国Moor<br>Instruments社<br>moorFLPI | 1  | 4,998,000    | 4,998,000    | 2011/9/29  | 佐賀大学        |
| バイオハザード対<br>策用キャビネット                              | 三洋電機(株)<br>MHE-132AJ               | 1  | 1,319,740    | 1,319,740    | 2011/10/11 | 佐賀大学        |
| 標準型ドラフトチャ<br>ンバー                                  | (株)ダルトン<br>DFV-11AK-<br>12AA1      | 1  | 1,890,525    | 1,890,525    | 2011/11/9  | 佐賀大学        |

|   |                                 |   |           |           |            |      |
|---|---------------------------------|---|-----------|-----------|------------|------|
| エアシャワー                                  | 日本医化器械製作所<br>AS-850S-S          | 1 | 1,365,000 | 1,365,000 | 2011/11/22 | 佐賀大学 |
| 空気ばね式徐振装置                               | (株)ニコン<br>AYA-1209K4-NIT        | 2 | 829,500   | 1,659,000 | 2011/11/25 | 佐賀大学 |
| Elix Advantage 3                        | メルクミリポア<br>ZEXV003JP            | 1 | 743,295   | 743,295   | 2011/12/2  | 佐賀大学 |
| Patch Clamp Amplifier                   | 独国HEKA社<br>EPC10USB<br>Single   | 1 | 2,992,500 | 2,992,500 | 2011/12/26 | 佐賀大学 |
| Patch Clamp Amplifier                   | 独国HEKA社<br>EPC7PLUS             | 1 | 1,102,500 | 1,102,500 | 2011/12/26 | 佐賀大学 |
| Multi-channel data acquisition software | 独国HEKA社                         | 1 | 672,000   | 672,000   | 2011/12/26 | 佐賀大学 |
| 倒立顕微鏡                                   | (株)ニコン<br>Ti-S位相差<br>TiSL-PH-K4 | 1 | 999,337   | 999,337   | 2012/1/20  | 佐賀大学 |
| HSオールインワン<br>蛍光顕微鏡                      | (株)キーエンス<br>BZ-9000             | 1 | 9,120,300 | 9,120,300 | 2012/3/9   | 佐賀大学 |