

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25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・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

健常ラットの下肢筋肉(骨格筋)組織に対し、前年度に新生血管作用を有すると考えられる siRNA をソノポレーション法にて導入し、① 血管新生誘導因子(VEGF、PDGF)を誘導するか、否かについて遺伝子およびタンパク質レベルで解明すること。また② 血管造影法にて健常ラット下肢に新生血管の形成の有無を確認し、さらに③ レーザー光によるリアルタイム血流画像化装置にて siRNA をソノポレーション法にて細胞内導入した領域の血流動態が上昇していることを明らかとすることを研究目的とした。また下肢虚血モデルラットを用い、siRNA 導入後に歩行機能が改善されたか、否かを明らかにすることを第2の研究目的とした。

2. 研究の実施状況

健常ラット下肢へ導入するソノポレーション法の諸条件(超音波の出力量、候補周波数、超音波の照射時間、ナノバブルと核酸との混合比率 等)を決定するため、GFP 遺伝子をソノポレーション法にて健常ラットの下肢筋肉(骨格筋)組織に導入し、その GFP 発光量および GFP タンパク質量を評価基準とし、詳細な条件設定を行った。またその導入効率についても in vivo イメージング装置を用いた画像解析にても同作用について確認した。しかし、in vivo 実験系にてソノポレーション法を用いてラット下肢に siRNA を導入した時、遺伝子およびタンパク質レベルで解析を行うと Int6 のノックダウン効果が低く、十分に微小血管新生が観察されなかった。従ってソノポレーション法の全ての実験系(ナノバブルの品質、C3F8 ガスの効率、超音波プローブの音響効果等)を再確認し、Int6 のノックダウン効果を検討中である。一方、我々が独自に作成した siRNA を核酸配列は同じであるが、脱塩精製し、さらに HPLC 精製した純度の高い siRNA を作成し、その Int6 のノックダウン効果を検討し、血管新生作用を確認している。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件 ① Nomura M, Zhu HL, Wang L, Takayanagi R, Teramoto N SMAD2 disruption in mouse pancreatic beta cells leads to islet hyperplasia and impaired insulin secretion due to the attenuation of ATP-sensitive K⁺ channel activity. Diabetologia, 57 (1) 157-166, 2014. ② Iwasa K, Zhu HL, Shibata A, Maehara Y, Teramoto N Molecular analysis of ATP-sensitive K⁺ channel subunits expressed in mouse vas deferens. British Journal of Pharmacology, 171 (1) 145-157, 2014. ③ Sidaway P, Teramoto N L-type Ca²⁺ channel sparklets revealed by TIRF microscope in mouse urinary bladder smooth muscle. PLOS ONE, 9 (4) e93803, 2014. (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計5件</p>	<p>専門家向け 計2件 ① 寺本 憲功、朱 海雷 「マウス輸精管平滑筋細胞に発現する ATP 感受性カリウムチャンネルサブユニットの分子生物学的解析」 福岡・平成25年11月16日・第66回 日本薬理学会 西南部会 ② Teramoto N, Nomura M 「SMAD2 disruption in mouse pancreatic β cells leads to islet hyperplasia and impaired insulin secretion due to the attenuation of ATP-sensitive K⁺ channel activity」 仙台・平成26年3月19～21日・日本薬理学会年会 一般向け 計3件 ① 寺本 憲功 「薬理学的作用の可視化研究」 佐賀・平成25年4月27日・佐賀大学医学部麻酔科 同門会 ② 寺本 憲功 「佐賀から世界へ そして世界から佐賀へ ～佐賀大学医学部における最先端・次世代研究～」 佐賀・平成25年7月5日・長崎県立島原高等学校 ③ 寺本 憲功 「佐賀から世界へ そして世界から佐賀へ ～佐賀大学医学部における最先端・次世代研究～」 佐賀・平成25年9月27日・佐賀県立唐津東高等学校</p>
<p>図書 計0件</p>	<p>特記事項はありません。</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>特記事項はありません。 (取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><web サイトの名称> 佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 薬理学分野 <ページの題目> Research <アクセス URL> http://www.pharmacology.med.saga-u.ac.jp/YAKURIHP/Top_Page.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>地域に対して 科学・技術の対話を実施し、'サイエンス'を啓蒙した。 ① 「薬理学的作用の可視化研究」</p>

様式19 別紙1

	<p>(実施日) 平成25年4月27日 (場所) ホテルマリターレ創世 佐賀 (対象者) 佐賀大学医学部麻酔科 (参加者) 50名 (内容) 佐賀県内で開業あるいは勤務している麻酔科医に対して近年、'次世代の医薬品'として脚光を浴びている siRNA を用いた核酸医薬医療の有効性について 本プログラムの最新の知見を基に分かりやすく講演を行った。</p> <p>②「佐賀から世界へ そして世界から佐賀へ ～佐賀大学医学部における最先端・次世代研究～」 (実施日) 平成25年7月5日 (場所) 長崎県立島原高等学校 (対象者) 長崎県立島原高等学校理数科2年生 (参加者) 45名 (内容) 地元の高等学校の理数科特別進学クラスの生徒を対象に「科学」の面白さを伝え、近年、「科学離れ」が激しいとよばれる若い世代を対象に「科学」を啓蒙し、本プログラム内容のみならず医学に関する最新の知見を分かりやすく講演を行った。</p> <p>③「佐賀から世界へ そして世界から佐賀へ ～佐賀大学医学部における最先端・次世代研究～」 (実施日) 平成25年9月27日 (場所) 佐賀県立唐津東高等学校 (対象者) 佐賀県立致遠館高等学校理数科2年生 (参加者) 45名 (内容) 地元の高等学校の理数科特別進学クラスの生徒を対象に「科学」の面白さを伝え、近年、「科学離れ」が激しいとよばれる若い世代を対象に「科学」を啓蒙し、本プログラム内容のみならず医学に関する最新の知見を分かりやすく講演を行った。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	<p>特記事項はありません。</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25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

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 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	114,000,000	87,000,000	27,000,000	0	0
間接経費	34,200,000	26,100,000	8,100,000	0	0
合計	148,200,000	113,100,000	35,100,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	614,490	27,000,000	0	27,614,490	27,614,490	0	0
間接経費	0	8,100,000	0	8,100,000	8,100,000	0	0
合計	614,490	35,100,000	0	35,714,490	35,714,490	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	19,406,597	プレッシャーミオグラフ装置、研究用倒立顕微鏡システム、試薬等
旅費	169,360	微小血管の新生機序の研究討論、低侵襲性分子導入等
謝金・人件費等	7,221,137	
その他	817,396	学会参加費、分析センター利用料、英文校正等
直接経費計	27,614,490	
間接経費計	8,100,000	
合計	35,714,490	

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 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
リアコーダ MARK VII	グラフテック㈱製 WR3320A-1DH	1	567,000	567,000	H25.9.24	佐賀大学
超高性能三次元空 気ばね式防振台	ヘルツ㈱製 TDIS-129LA(KT)	1	651,000	651,000	H25.11.8	佐賀大学
小動物用イソフル ラン麻酔器410	マルタ共和国 Univentor社製 8323102	1	567,000	567,000	H25.11.15	佐賀大学
プレッシャーミオグ ラフ装置 一式	デンマーク国 Danish Myo Technology A/S社製 ①コンフォーカルプレ ッシャーミオグラフシステム 120CP	1	5,615,925	5,615,925	H25.11.29	佐賀大学
プレッシャーミオグ ラフ装置 一式	②フローメータ 161FN	1	967,575	967,575	H25.11.29	佐賀大学
Meta Fluor Zyla DG-4 (Ver7.8)	㈱ニコン製	1	4,238,325	4,238,325	H26.1.14	佐賀大学
研究用倒立顕微鏡 システム	㈱ニコン製 ECLIPSE Ti-E	1	4,252,500	4,252,500	H26.1.14	佐賀大学