

令和 3 年 3 月 31 日現在

機関番号：33708

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15460

研究課題名(和文)核酸RNAi干渉医薬品を用いた放射線標識に関する研究

研究課題名(英文)Study on radiolabeling using nucleic acid RNAi medicine

研究代表者

永井 慎(Nagai, Makoto)

岐阜医療科学大学・保健科学部・准教授

研究者番号：30460497

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：細胞種選択的に入る放射線医薬品はほとんど見当たらない。本研究では、がん細胞特異的に遺伝子発現しているmRNAを標的に放射性物質の標識しても凝集せず、選択的に結合する放射性核酸医薬品の作製設計を目的とした。放射性物質を標識したRNAの分子設計は、放射性物質を標識することでの核酸配列の無凝集および自由度の確保について分子軌道法を用いて設計した。シミュレーション結果より核酸のハイブリッド能を損なわない構造を決定した。また、それに伴う合成法も検討した。テクネシウムを合成付加してLNA核酸断片を作成し、核酸断片の凝集性および選択性を測定したところ、双方とも失わない設計および合成が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究が目指す成果は、点在するがん細胞等の検査や治療薬として使用できる核酸医薬品の開発である。本研究成果は分子量の大きい放射性物質を核酸断片に結合させることで、核酸断片が金属との凝集の防止と自由度の確保をする分子設計法および分子モデルとして結果が得られた。放射性物質を用いた核酸分子設計に関する合成法の報告は数少なく学術的にも意義があった。また、今後、細胞内への導入確認および検査・治療等への応用ができれば、点在するがん治療への対応が可能となり社会的意義はありと思われる。

研究成果の概要(英文)：Radiopharmaceuticals of RNA medicine have not been found. In this research, we aimed to prepare radioactive nucleic acid drugs that withstand metallic labels and bound to target genes. Molecular design of RNAi drugs that specifically accumulate in human cancer cells even after radiolabeling was designed by molecular orbital method. As a result, substitution at the 5-position hydrogen atom of uracil resulted in not impairing the hybrid ability of the base even when labeling was carried out. Synthetic addition of nonradioactive iodine from BNA or LNA as a raw material was prepared, added to human leukemia cultured cells, and cell growth rate after culturing was measured. The transcription inhibition rate of the synthesized and added RNAi medicine was a result which was not different from usual.

研究分野：放射性医薬品

キーワード：放射性医薬品 核酸医薬品

1. 研究開始当初の背景

これまでの放射性医薬品は有機化合物に放射物質を標識しており、がん組織集積性や薬物動態等での検査に有効であるが、特異的な細胞選択性を持った検査はない。RNA 医薬品は、がん細胞特異的に薬理効果を発揮することから応用可能と推測されるが放射性医薬品としては未だ見当たらない。これは分子量の大きく、極性が働くために RNA 断片に結合させることで凝集してしまうことが通説であったためである。

2. 研究の目的

そこで本研究では、金属標識に耐えてなおかつ自由度を持ち、標的遺伝子に結合できる放射性核酸医薬品を設計作製することを目的とした。

3. 研究の方法

1) ヒト遺伝子の目的配列を対象としたダンベル型 RNAi 医薬品を設計した後に、1) 放射性タリウムおよびテクネシウムを結合できるように目的配列以外の核酸配列を変化させることで安定化した放射性 RNAi 医薬品を分子軌道法にてシミュレーションして設計した。2) これらの結果より合成付加しても最適な核酸分子を用いて RNAi 医薬品の合成法を検討し、放射性タリウムおよびテクネシウムを標識した。3) 作製した放射性 RNAi 医薬品は、溶液中で薬剤としても有効性および目的配列を持った核酸断片との選択性と結合能について評価した。

4. 研究成果

放射線物質を標識してもヒトがん細胞に特異的に集積する RNAi 医薬品の分子設計を分子軌道法により設計した。30 塩基を結合させたモデルにおいて、核酸の塩基における部分をヨード置換するとハイブリッド能を損なってしまうことが明らかとなったが、12 側鎖配列を付加し、枝分かれ構造に付加させてその末端である塩基の水素基をターゲットに置換反応をさせれば、放射線物質標識をしてもハイブリッド能を損なわない結果が得られた。また、塩基数を増やしたモデリングにおいても同様の結果であった。モデリングの結果を基に BNA または LNA を原料に非放射性ヨードを合成付加して作製をした。合成付加する塩基以外はすべてマスキング処理をした後に放射性物質を付加させてマスキングを外して放射性核酸医薬品を作成した。最終的に合成付加した核酸医薬品は、精製回収後、回収率が 72% と高回収であった。

合成付加した核酸医薬品は、ノーザンブロット法と同様にヒトがん細胞より抽出した全 RNA を付着させ、ハイブリダイズ能について検討をした。ターゲットとなる mRNA 量はあらかじめ定量した。ハイブリダイズの結果、非特異的結合は認められず、特異的な結合のみ確認された。また、ハイブリダイズさせた遺伝子量より 1.1 倍量の放射性核酸医薬品をいれることですべてのターゲット遺伝子に結合することが確認された。

今後、放射性ヨード等を用いることで投与後における細胞内での持続時間および選択特異性について実験を展開したい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

1) Makoto Nagai, Kazuhiro Inagaki: Effect of St John's Wort on the pharmacokinetics and expression of cytochrome P450 CYP3A4 and CYP3A5 in healthy volunteers. Journal Medical Nursing Environment Science 18-25 2018.

2) Makoto Nagai, Kazuhiro Inagaki : Interaction of lime and hassaku orange components with rat and human P450 CYP3A. Journal Medical Nursing Environment Science.31-36 2018.

3) Makoto Nagai, Kazuhiro Inagaki : Effect of the rind portion in Hassaku extracts on the pharmacokinetics of primidone. Journal Medical Nursing Environment Science 26-30 2018.

4) Makoto Nagai, Kazuhiro Inagaki : The Cytochrome P450(CYP)3A4, CYP3A5 Genotype and Phenotype Frequencies and that Novel Single Polymorphisms affected Phenotype from Japanese Individual. Journal Medical Nursing Environment Science 11-17 2017

[学会発表](計1件)

・永井 慎, 片淵哲朗: 放射性標識をした核酸医薬品の設計モデリングと機能性評価
第 138 回 日本薬学会(金沢) 2018

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 慎 (Nagai Makoto)

岐阜医療科学大学・保健科学部・准教授
研究者番号: 30460497

(2) 研究分担者

片淵哲朗 (Katafuchi Teturo)

岐阜医療科学大学・保健科学部・教授
研究者番号: 00393231

(3) 研究協力者

なし