



Active agingを支援するバイオメディカル工学の研究拠点  
—福島県の震災復興に貢献する医工連携研究—

# 治療・予防・診断を目指した 分子の開発

## 研究背景と目的

Active agingを達成するうえで、癌や脳疾患・高血圧など高齢化に伴って増加する疾患や、B型肝炎など完治の困難なウイルス感染症の予防・治療は重要な課題である。そこで、このような疾患に対して、治療薬や予防・診断法の開発を目指している。

### 脳腫瘍細胞への核酸医薬送達

脳腫瘍のうちでも特に悪性度が高いグリオーマには効果的な治療法がなく、その開発が求められている。グリオーマに核酸医薬などを特異的に送達することは、その手段のひとつとして期待されている。そこで、ポリシロキサンを基盤とし、アルキンを有するカチオン性両親媒性ポリマー(PIm)を開発し、グリオーマ細胞表面に特異的に結合するペプチドを連結してグリオーマ細胞特異的遺伝子送達を行った。その結果、ペプチドを付加した場合は付加していない場合に比べてグリオーマ細胞にDNAが約10倍多く取り込まれた。

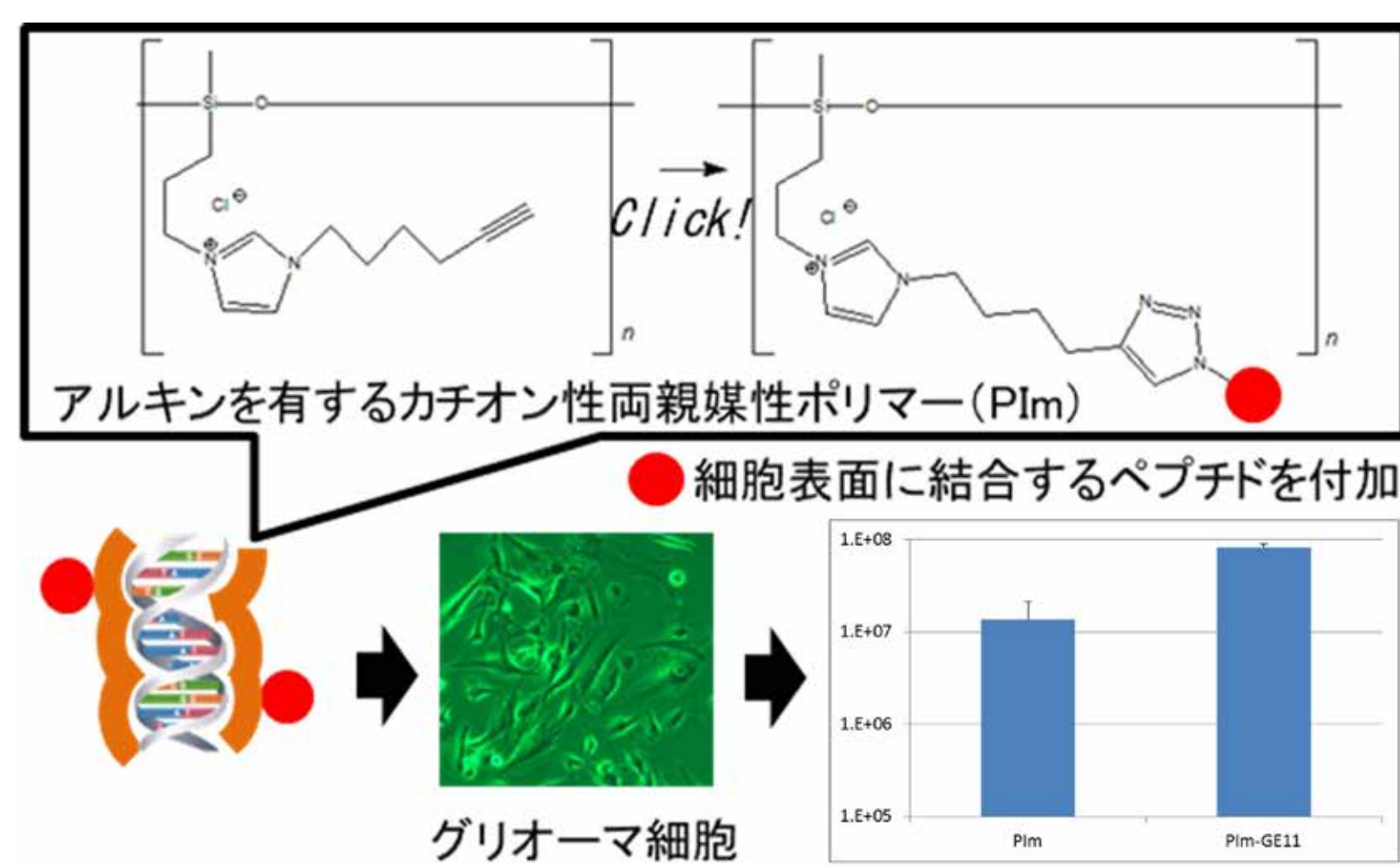


図1: 開発したポリマーを用いたグリオーマ細胞へのDNAの送達

ペプチドを付加するためのアルキンを有し、負電荷を持つDNAに結合するカチオン性両親媒性ポリマー(PIm)を作製した。PImに、グリオーマ細胞表面に特異的に結合するペプチドをアジド化しクリック反応により付加した。作製したポリマーにルシフェラーゼ遺伝子をコードするDNAを結合してグリオーマ細胞に取り込ませ、細胞内で発現したルシフェラーゼによる発光量から取り込み効率を評価した。その結果、ペプチドを付加した場合は付加していない場合に比べてグリオーマ細胞への取り込みが約10倍向上することが示された。

### アルツハイマー病原因物質検出法開発

アルツハイマー病は脳内でアミロイドβペプチド(Aβ)が凝集することによって引き起こされると考えられている。その早期発見・早期診断法の開発を目指し、Aβを付加した金コロイドの作製を行うために、アルキンおよびチオールを導入したカチオン性ポリシロキサン誘導体PIm-SHを合成した。そして、AβをPIm-SHに付加した金コロイドを作製した。この金コロイドにAβを加えると、凝集を生じることを確認した。この結果から、金コロイドによりAβを検出できることが示された。

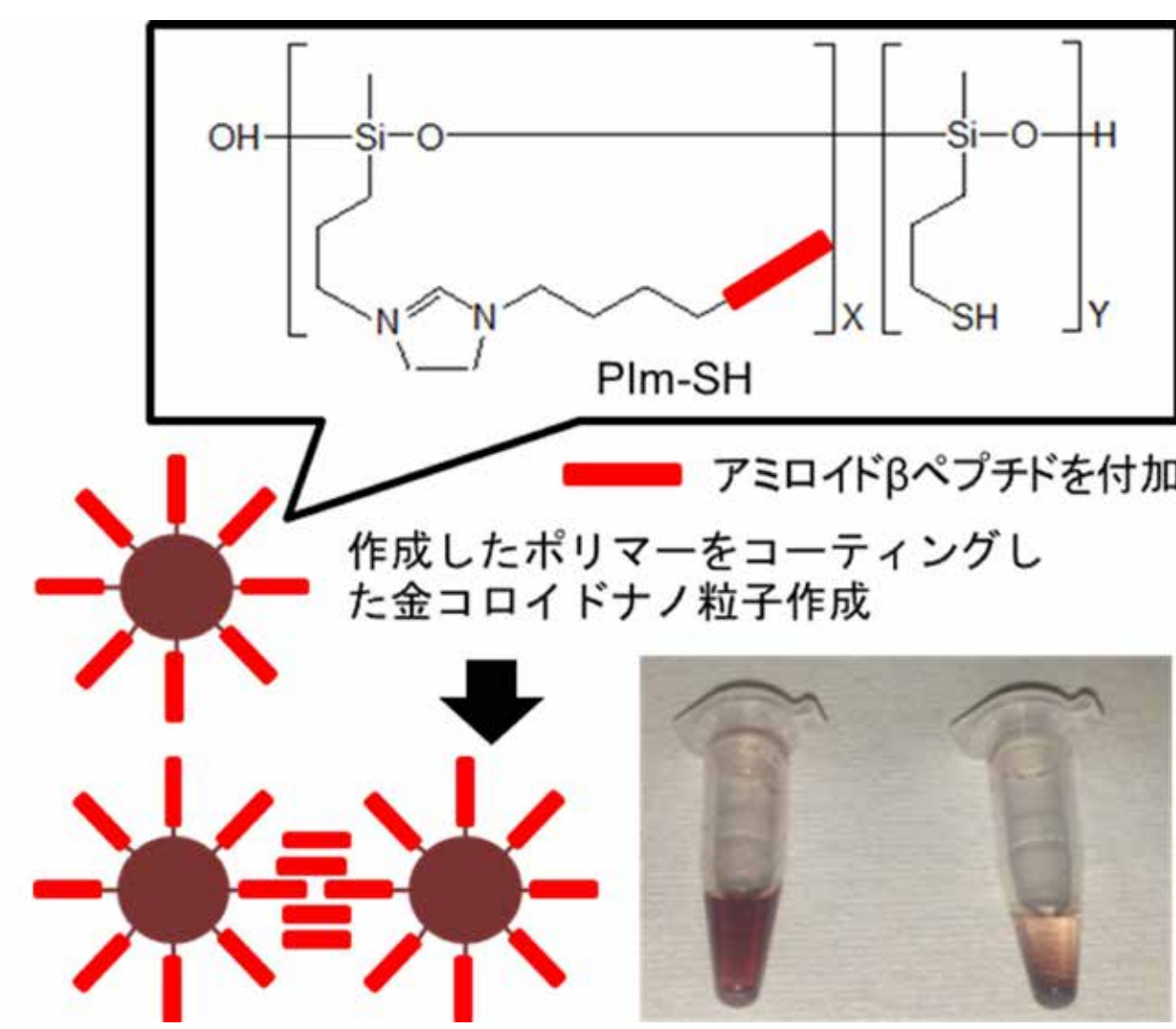
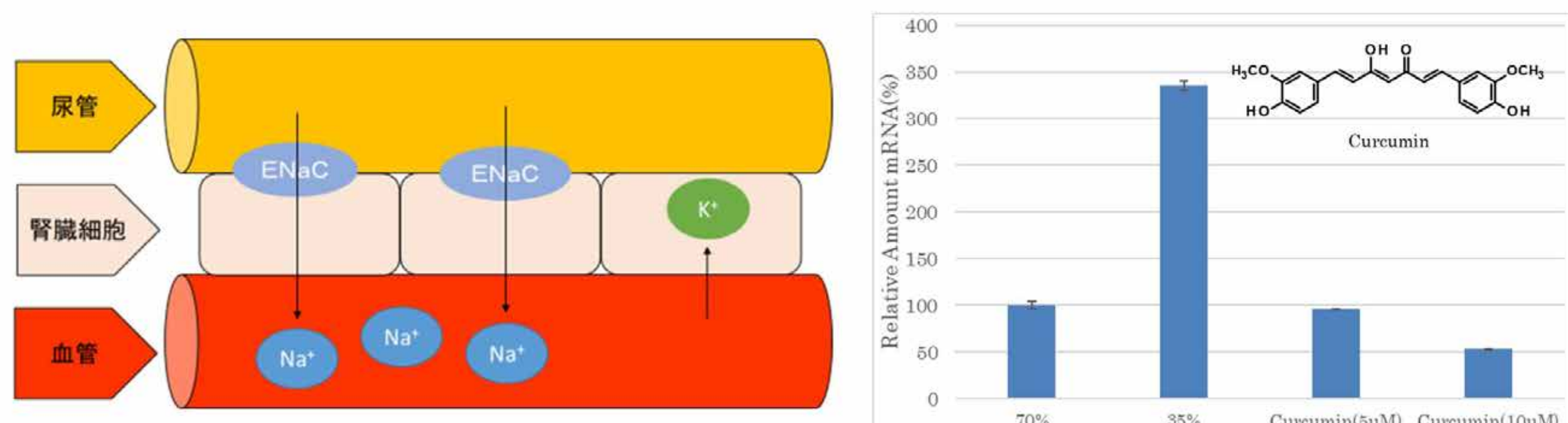


図2: 金コロイドによるアミロイドβペプチドの検出

現在アルツハイマー病の効果的な治療法はなく、進行を抑制する効果のある薬しかないことから、早期発見・早期診断が大切となっている。そのような診断法の開発を目指し、Aβを付加した金コロイドの作製を行った。そのために、Aβを付加するためのアルキンおよび金コロイドにコーティングするためのチオールを導入したカチオン性ポリシロキサン誘導体PIm-SHの合成を行った。アジド化したAβをPIm-SHにアルキンを介してクリック反応により結合し、塩化金を加えた後に還元することにより、金コロイドを作製した。この金コロイドに15μM以上の濃度でAβを加えると、凝集を生じることが確認された。この凝集は、金コロイドに付加したAβと添加したAβが結合することで生じたと考えられる。この結果から、金コロイドによりAβを検出できることが示された。

## 食塩感受性高血圧に効果のある 生理活性物質の探索

食塩感受性高血圧は日本国内において、高血圧患者全体の4割を占める。食塩感受性高血圧では、腎臓細胞の上皮型ナトリウムチャンネル(ENaC)の合成量が増加し、Na<sup>+</sup>再吸収が増進することによって血圧の上昇が引き起こされる。本研究では、様々なポリフェノール類についてENaCの合成抑制効果を調べた。その結果、curcumin、R-(10)-gingerolが、顕著にENaCの合成を抑制することが示された。このような化合物は、食塩感受性高血圧の予防や治療に有効であると期待される。



腎臓細胞の上皮型ナトリウムチャンネル(ENaC)を介して尿からNa<sup>+</sup>の再吸収が行われるが、食塩感受性高血圧では、ENaCの合成量が増加し、Na<sup>+</sup>再吸収が増進することによって血圧の上昇が引き起こされる。本研究では、アフリカツメガエルの腎臓由来細胞(A6細胞)を用い、浸透圧ショックによって増進したENaCの合成の抑制効果を、様々なポリフェノール類について解析した。その結果、curcumin、R-(10)-gingerolが、5μM以下の低濃度で顕著にENaCの合成を抑制することが示された。

図3: 食塩感受性高血圧の発症機構(左図)とcurcuminによるENaC発現抑制効果(右図)

## 既承認薬ライブラリーを用いた 医薬品の開発

既承認薬は安全性が確認済みであり、製造法も確立され、各種試験省略可能で臨床データが利用できるなどの利点があり、新規の薬効が見出されれば低コストで新規薬剤を開発できると期待される。本研究では、癌細胞に酸化ストレスに対する耐性をもたらししている酵素MTH1を阻害する薬剤、およびB型肝炎ウイルス(HBV)の増殖に必須である逆転写酵素のRNase H活性を阻害する薬剤を見出した。

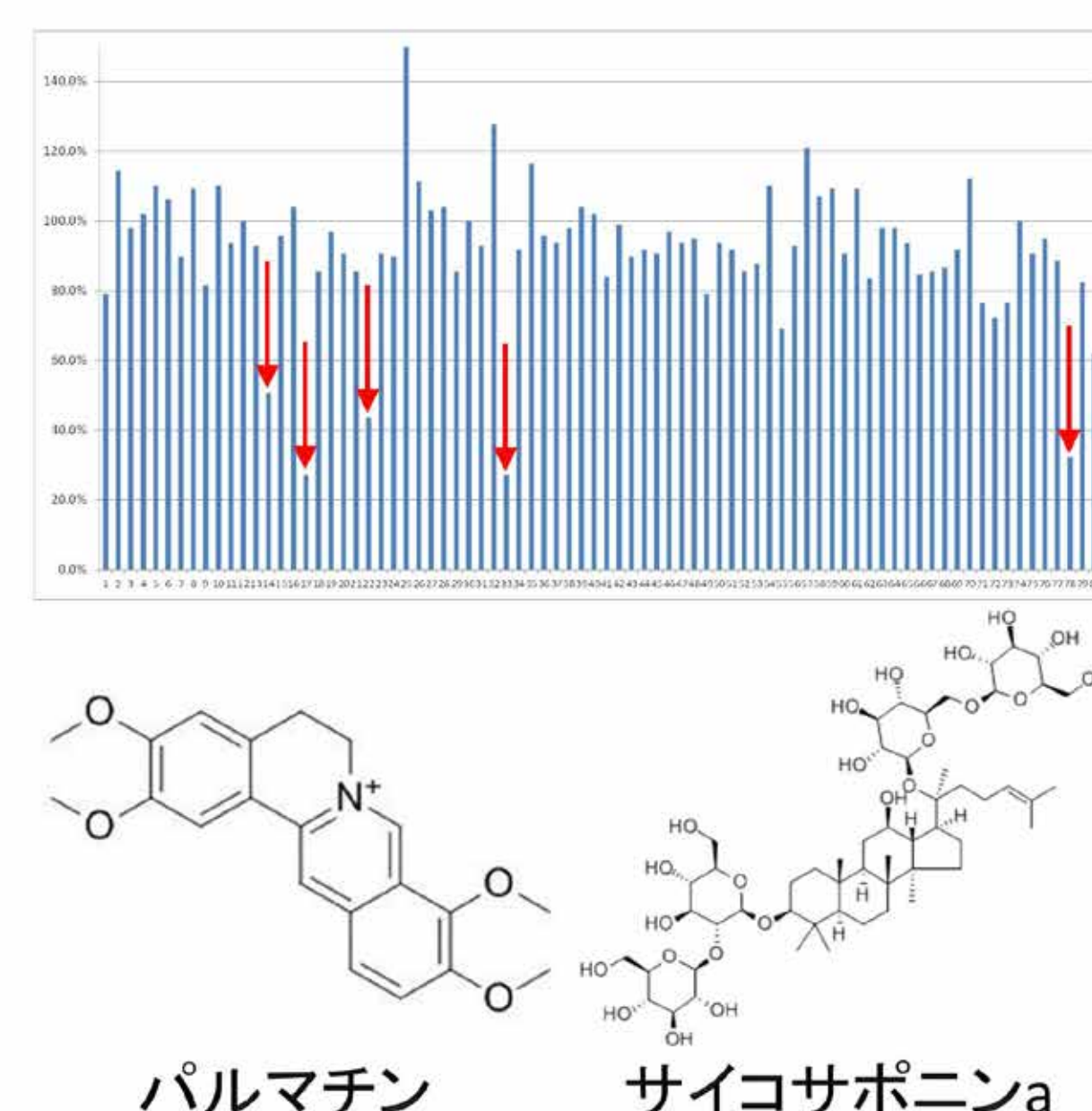


図4: MTH1を阻害する生薬由来化合物のスクリーニング結果(上)とMTH1、HBV RNase Hを阻害する生薬由来化合物の例(下)

LTTバイオファーマ社から既承認薬ライブラリー、富山大学和漢医薬学総合研究所から生薬成分化合物ライブラリーの提供を受けて探索を行った。図4にその一例としてMTH1を阻害する生薬由来化合物のスクリーニング結果を示す。100μMの濃度で化合物を加えた結果、矢印の化合物が顕著な阻害活性を示した。MTH1は酸化されたヌクレオチドを分解することにより、癌細胞が死滅するのを回避する。従って、MTH1を阻害する化合物は癌細胞を死滅させると期待される。本研究では、MTH1を阻害する化合物としてパルマチンなどが見出された。また、HBV RNase Hを阻害する化合物としてサイコサポニンaなどが見出された。サイコサポニンはHBVの増殖を抑制することが知られている。今回の結果は、その抑制効果が、逆転写酵素のRNase H活性を阻害することによるものであることを示唆する。

【謝辞】本研究はLTTバイオファーマ社との共同研究として、また平成28年度富山大学和漢医薬学総合研究所の共同利用・共同研究助成を受けて行われました。ここに感謝の意を表します。