

## がん細胞の増殖や転移を促進する分子だけを 狙って破壊する新しい光線力学治療法の開発

An anionic phthalocyanine decreases NRAS expression by breaking down its RNA G-quadruplex

Keiko Kawauchi, Wataru Sugimoto, Takatoshi Yasui, Kohei Murata, Katsuhiko Itoh, Kazuki Takagi, Takaaki Tsuruoka, Kensuke Akamatsu, Hisae Tateishi-Karimata, Naoki Sugimoto, Daisuke Miyoshi

Nature Communications, 9, Article number: 2271 (2018).

### <本研究成果のポイント>

- 光線力学療法は身体的負担の少ないがん治療法として知られています。本研究では、RNA が形成する特別な構造である四重らせん構造と選択的に結合し、光増感能を有する化合物を用いて、分子標的型光線力学療法を初めて可能にしました。
- がん細胞の生存や転移を促進する RAS タンパク質を狙った医薬品の開発は長年行われてきましたが、いまだに臨床の場で使われているものはありません。今回の成果は、RAS タンパク質をコードする RNA を分解することで、RAS タンパク質の量を減少させることができる画期的な治療方法の開発に繋がります。
- RAS タンパク質をコードする RNA に結合する分子光感受物質 (ZnAPC) を同定しました。これに光を照射することで、RNA を分解できました。
- がん細胞に ZnAPC を導入し、光を照射することで、標的の RNA とそこから作り出されるタンパク質の量を大幅に減少させました。さらに、がん細胞をほぼ完全に死滅させることができました。
- 本研究で開発した方法は、RNA を標的とした分子標的型光線力学療法であり、選択性を向上させることが可能な新しい療法として注目されます。また、RNA の構造を標的にした医薬品は例がないことから、本成果をもとにして、新しい仕組みの医薬品開発が加速すると期待されます。

## 【研究の背景】

RAS タンパク質の一種である NRAS タンパク質は、多くのがん細胞で活性化しており、細胞増殖や転移を促進し、さらに細胞死を抑制する。そのため、NRAS タンパク質の働きを阻害する物質を開発できれば、がん治療薬に直結する。しかし、NRAS タンパク質の構造はサッカーボールのように球状であり（図 1 右）、他の物質が結合できる部位がほとんどない。そのため、医薬品が未だにない。この問題は、最近の Nature 誌（Nature, 520, p278, 2015）でも指摘されている。

## 【研究の戦略と目的】

甲南大学フロンティアサイエンス学部（FIRST）の三好大輔教授と川内敬子准教授の共同研究グループは、NRAS 遺伝子から作られ、NRAS タンパク質をコードする mRNA（伝達 RNA、図 1）に着目した。NRAS mRNA の配列には、グアニンに富んだ領域が存在する。この領域は「四重らせん構造」とよばれる特殊な構造を形成する（図 2）。NRAS mRNA が形成する四重らせん構造に結合し、切断できれば、NRAS タンパク質の量を効率的に減少でき、がん細胞の増殖や転移を強力に抑制できると期待できる。

この目的のために、我々の研究グループがこれまでに四重らせん構造と選択的に結合できることを報告してきた、アニオン性フタロシアニン（マイナスの電荷をもつフタロシアニン、APC と略する）に注目した。APC はがん組織に選択的に取り込まれる。さらに、APC に亜鉛（Zn）が結合した ZnAPC（図 3）は光増感能を有していることから、光線力学療法（注 4）において、光照射で活性酸素を産生し、周囲の生体物質を酸化・切断することができる。

本研究では、ZnAPC が、① NRAS mRNA が形成する四重らせん構造と特異的に結合し、② 光照射によって NRAS mRNA が形成する四重らせん構造を特異的に分解するか否かについて検討した。さらに、③ ZnAPC がヒトがん細胞内で NRAS mRNA と NRAS タンパク質の量を減少させ、④ がん細胞の増殖を抑制し、さらに死滅させることが可能かどうかを検討した。同時に、⑤ 腫瘍中心部に見られる低酸素状態でも ZnAPC が機能するかを確認した。

## 【研究の結果】

上述の目的に従って研究した結果の概要を示す。

- ① ZnAPC と NRAS mRNA の四重らせん構造の結合：ZnAPC は NRAS mRNA が形成する四重らせん構造と強く結合した。さらに、他のがん関連遺伝子の mRNA が形成する四重らせん構造や、mRNA の大部分が形成する構造である二重らせん構造には結合しなかった。
- ② ZnAPC による NRAS mRNA の四重らせん構造の光切断：ZnAPC は NRAS mRNA が形成する四重らせん構造を光照射で切断した。上記①と同様に、ZnAPC は、他の配列が形成する四重らせん構造や二重らせん構造を切断しなかった。

以上から、ZnAPC による NRAS mRNA 四重らせん構造の認識と切断には、高い結合能力と識別能力の両方が備わっていることが分かった。そこで、ヒト乳がん由来の細胞（MCF-7細胞）内における ZnAPC の機能を検討した。

- ③ ZnAPC による NRAS mRNA と NRAS タンパク質の発現量の減少：ZnAPC の取り込んだがん細胞（図 4a）に対して、毒性が低く、細胞や組織の透過性のある波長の長い近赤外光を照射した。その結果、細胞内の NRAS mRNA と NRAS タンパク質の発現量が減少した（図 4b）。

- ④ がん細胞の増殖抑制：がん細胞の増殖は、ZnAPCの取り込みだけでは変化しなかった。これは、ZnAPCそのものの細胞毒性低いことを示している。しかし、ZnAPCを取り込み、かつ光照射を行うことで、ほとんどのがん細胞は死滅した（図4c）。
- ⑤ 腫瘍の中心部は、十分な血管が発達しないことから、酸素が欠乏した低酸素状態となる。ZnAPCは、この低酸素状態においても、NRAS mRNAの四重らせん構造を光切断できた。さらに、ZnAPCは、光照射で発生した活性酸素を除去した状況でもNRAS mRNAの四重らせん構造を切断することが示された。

【図表】

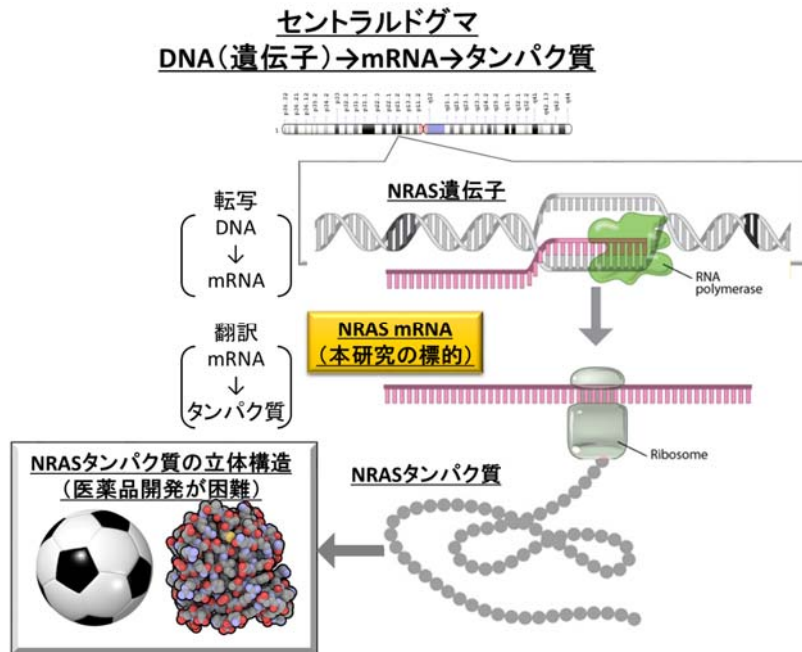


図 1：セントラルドグマの模式図と、NRAS 遺伝子、NRAS タンパク質の立体構造

**四重らせん構造：**  
**グアニン(G)を多く含む核酸が形成する構造**

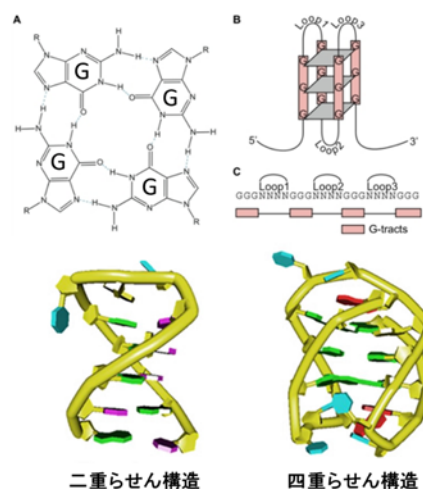


図 2：グアニンを多く含む核酸（DNA や RNA）が形成する四重らせん構造の模式図（上）と、核酸の標準的な構造である二重らせん構造と、四重らせん構造の比較（下）

### ZnAPC(亜鉛が配位したフタロシアニン)

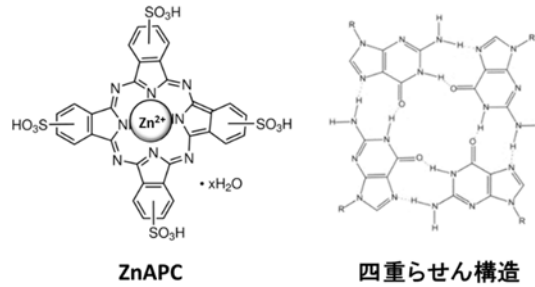


図 3：亜鉛フタロシアニンの化学構造と、四重らせん構造を形成するグアニンの四量体の比較。ZnAPC の大きさが、グアニン四量体と類似していることが分かる。

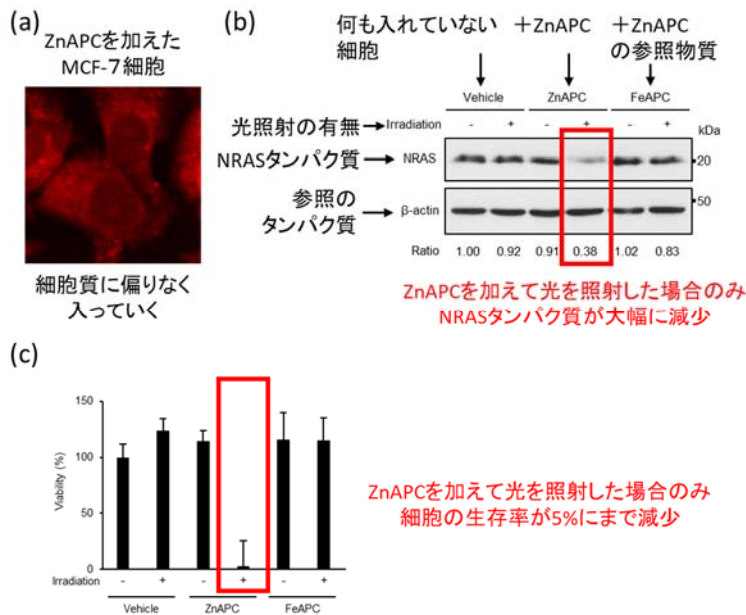


図 4：(a)ZnAPC を導入した細胞の顕微鏡写真。ZnAPC は細胞に自発的に取り込まれる。(b)ZnAPC と光照射によって減少した NRAS タンパク質の量

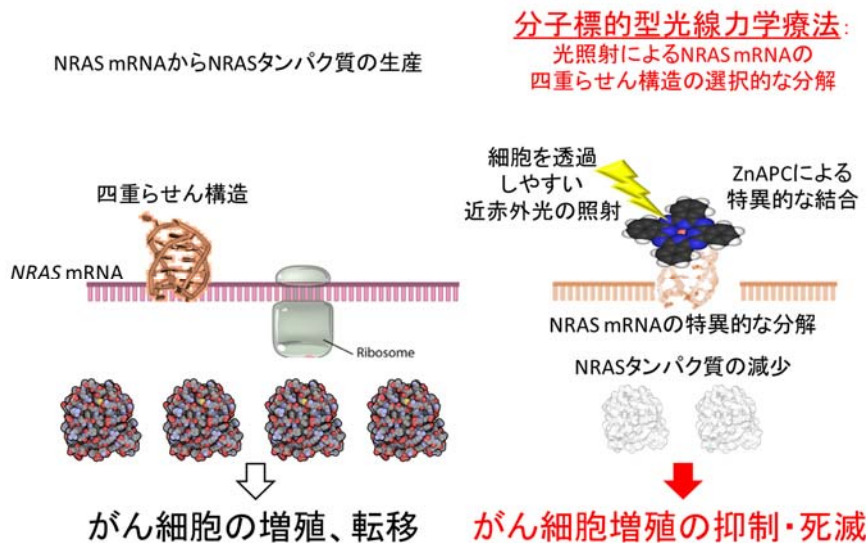


図 5：本研究のまとめ。(右)がん細胞における NRAS タンパク質の生産。(b) 本研究で開発した分子標的型光線力学療法。NRAS mRNA が形成する四重らせん構造に結合する ZnAPC に近赤外光を照射することで、NRAS mRNA の四重らせん構造のみを切断。NRAS タンパク質の発現が減少し、がん細胞の増殖抑制と死滅が可能となった。

## 掲載された新聞紙など

\* 神戸新聞：「特定タンパク質破壊でがん細胞の死滅成功 甲南大」

<https://www.kobe-np.co.jp/news/iryuu/201806/0011344595.shtml>

\* 産経新聞：「がん細胞だけ死滅させる医薬品を開発 甲南大チーム」

<https://www.sankei.com/west/news/180611/wst1806110063-n1.html>

\* 毎日新聞：「がん細胞 赤い光で死滅 薬剤、遺伝子狙い撃ち 甲南大」

<https://mainichi.jp/articles/20180612/k00/00m/040/152000c>

\* 日刊工業新聞：「がん転移分子のみ破壊 甲南大、負担軽い治療に期待」

<https://www.nikkan.co.jp/articles/view/00476939>

\* 時事通信：「がん増殖分子狙い撃ち＝光線療法、効果向上も－甲南大」

<https://www.jiji.com/jc/article?k=2018061100859&g=soc>

\* 共同通信：「光照射でがん細胞狙い撃ち体外実験で死滅、甲南大」

<https://rd.kyodo-d.info/np/2018061101002160?c=39546741839462401>

\* 日本経済新聞：「光を照射、がん狙い撃ち 甲南大、体外実験で死滅 増殖・転移抑える治療に」

<https://www.nikkei.com/article/DGKKZO31660760S8A610C1CR8000/>

\* 朝日新聞：「がんの増殖促す分子だけ破壊 「光線力学療法」で新手法」

[https://www.asahi.com/articles/ASL6C6THPL6CPLBJ003.html?iref=pc\\_ss\\_date](https://www.asahi.com/articles/ASL6C6THPL6CPLBJ003.html?iref=pc_ss_date)

\* The Japan Times: Konan University team effectively curbs production of cancer-linked protein

<https://www.japantimes.co.jp/news/2018/06/18/national/science-health/konan-university-team-effectively-curbs-production-cancer-linked-protein/#.WyyoVaf7QuX>

\* The Japan News: Researchers curb cancer-linked protein

<http://the-japan-news.com/news/article/0004507480>

北海道新聞、東奥日報、デーリー東北、秋田魁新報、河北新報、岩手日報、福島民友、山形新聞、新潟日報、上毛新聞、下野新聞、東京新聞、神奈川新聞、山梨日日新聞、信州毎日新聞、岐阜新聞、静岡新聞、中日新聞、北日本新聞、福井新聞、京都新聞、中国新聞、山陽新聞、山陽中央新報、日本海新聞、四国新聞、徳島新聞、愛媛新聞、高知新聞、西日本新聞、大分合同新聞、佐賀新聞、宮崎日日新聞、沖縄タイムス、琉球新聞の Web site

明鏡時報、自由時報、新浪新聞の Web site