

核酸医薬シーズとしての 微生物ゲノム由来オリゴDNA

信州大学 農学部 農学生命科学科

助教 高谷 智英

2021年8月3日

次世代創薬としての核酸医薬品

アンチセンス核酸

- 標的の塩基配列と相補的に結合して作用
- スプライシング阻害 (筋ジストロフィー治療)
- mRNA 分解・miRNA 阻害

免疫型核酸

- TLR リガンドとして、自然免疫を活性化・炎症応答を抑制
- アジュバント (免疫賦活剤)

核酸アプタマー

- 立体構造依存的に特定の分子と特異的に結合
- 別名「**核酸抗体**」
- 次世代医薬品として注目！
- 抗体との違いは？

抗体医薬

特異性が高い（抗原抗体反応）

価格も高い...

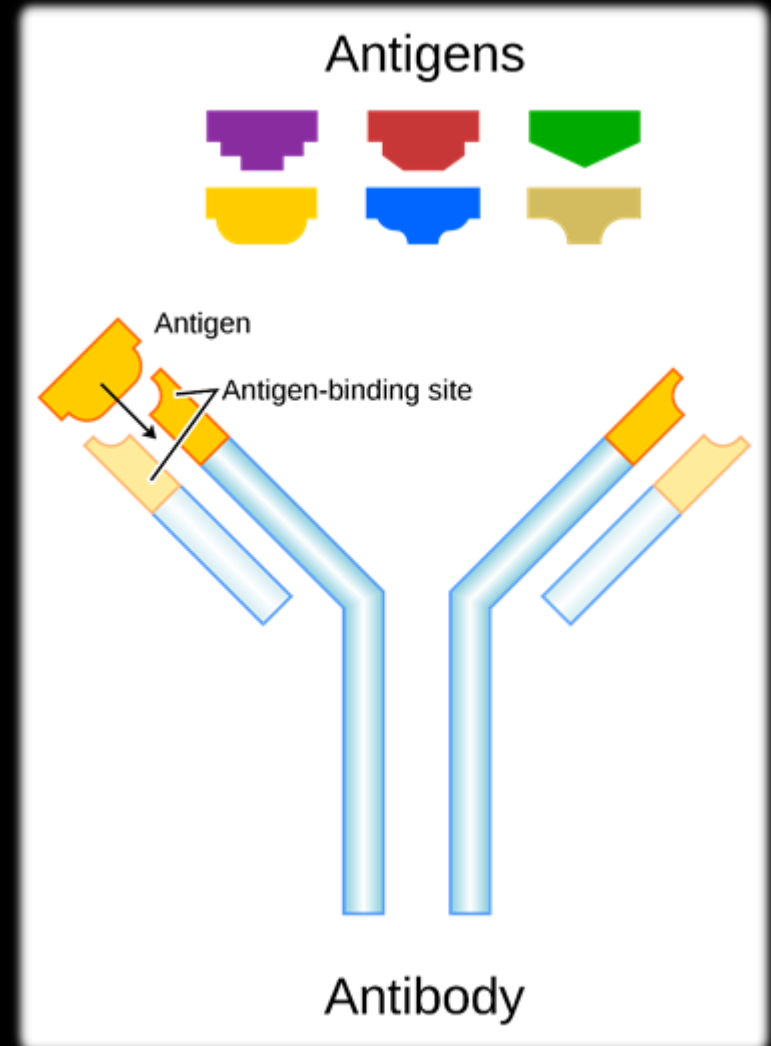
- PD-1抗体（オプジーボ、ニボルマブ）
 - 2014年：72万9849円/100 mg
 - 2019年：17万2025円/100 mg
 - 実験用の抗体：数万円/100 ug

安定性は低い...

- タンパク質なので...
- 小分子化合物や核酸と比べて不利

オーダーメイド可能

- 全ての分子に対する抗体を作成可能
- 価格...



核酸アプタマー

特異性が高い

- 塩基配列依存的
- 立体構造依存的

価格は安い！

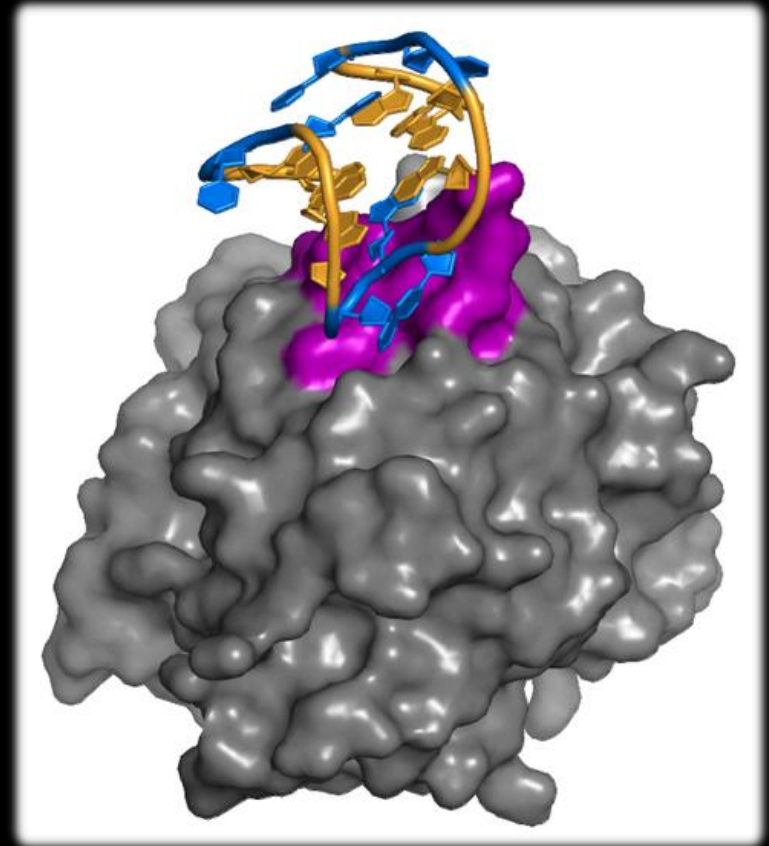
- 抗体と違い、化学合成が可能

安定性が高い！

- 熱安定性、化学物質耐性
- 修飾することで生体内での分化も抑制可

課題

- これまでに承認されたアプタマーは1件のみ
抗VEGFアプタマー (Macugen®, 2004)
- なぜ開発が進まないのか...

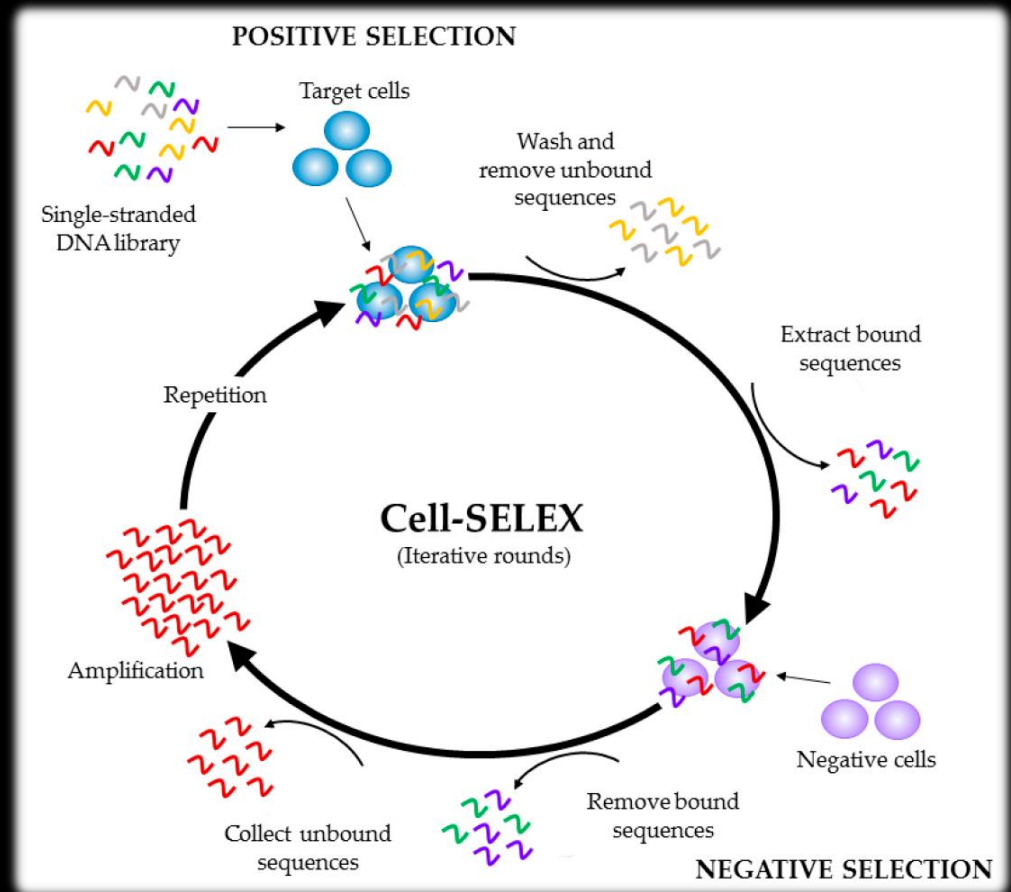


従来法：SELEX法によるアプタマー開発

ランダムな塩基配列の中から
標的に結合する配列を探索する
リバース・スクリーニング

標的（膜タンパク質が多い）を
事前に調整する必要がある

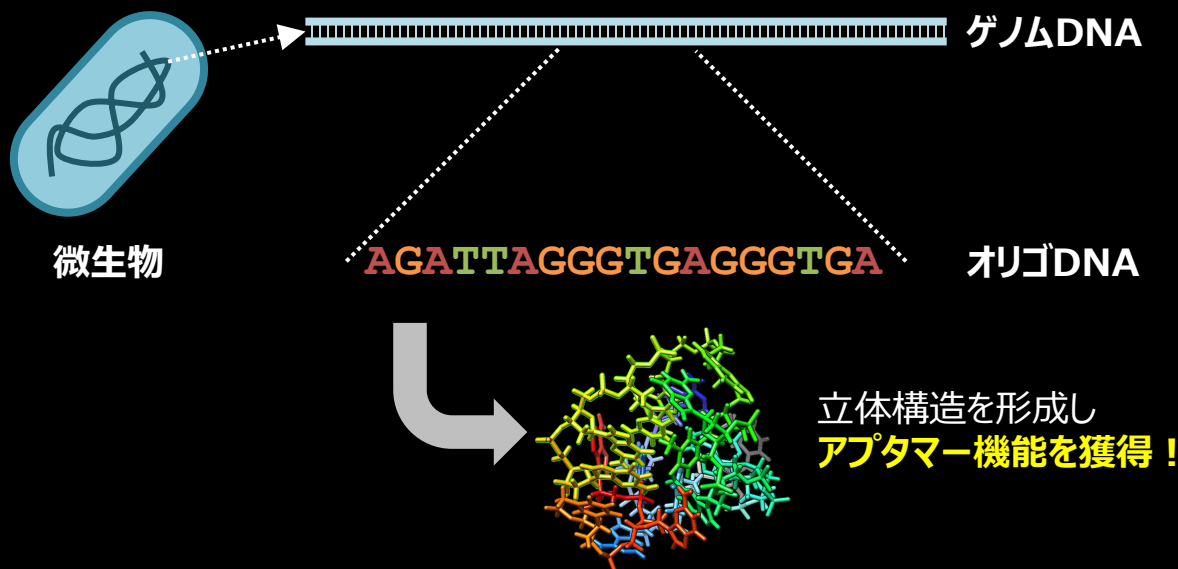
細胞レベル以上での作用は
実験して確認する必要がある



新技術：微生物オリゴDNA

乳酸菌などの有用な微生物のゲノム配列に由来するオリゴDNAに着目

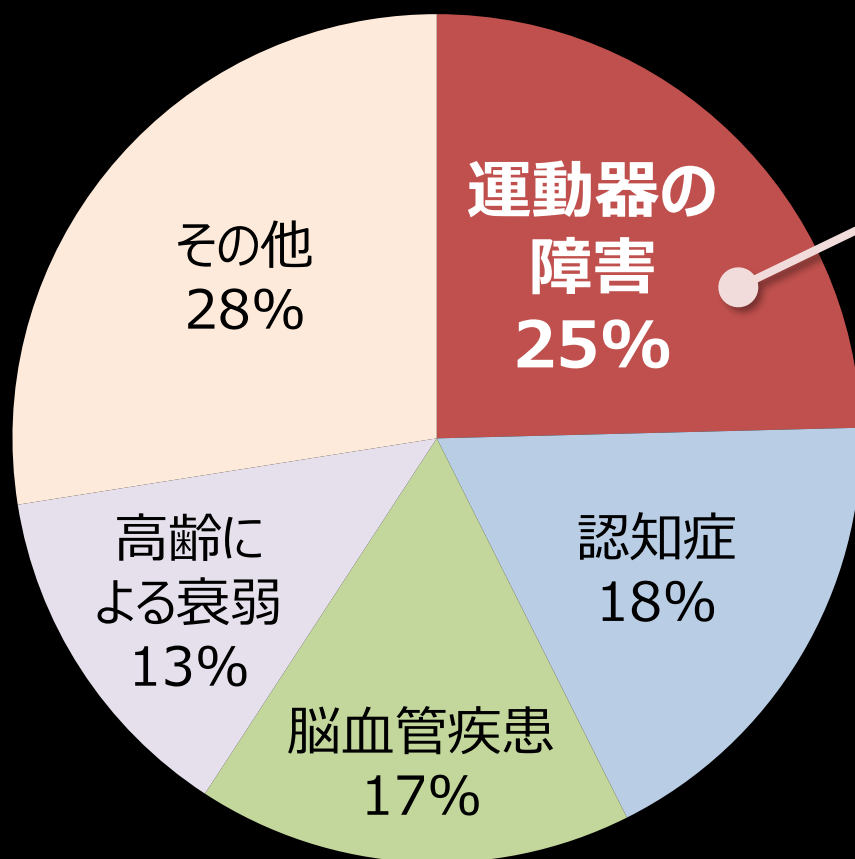
TLRリガンドとしての免疫作用が研究されてきたが、**アプタマーとしても働く**ことを発見





筋形成型オリゴDNA myoDN

ロコモティブ・シンドローム（運動器症候群）

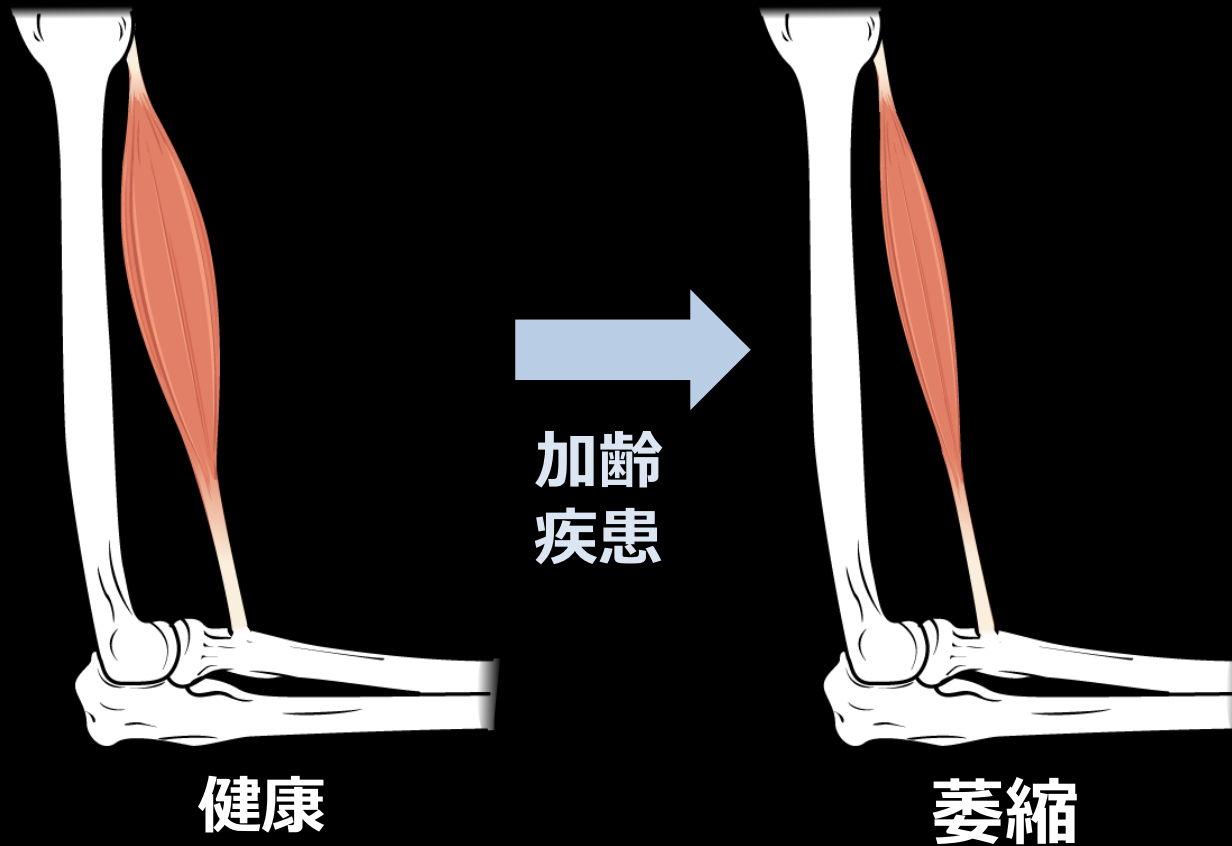


筋肉・骨・関節

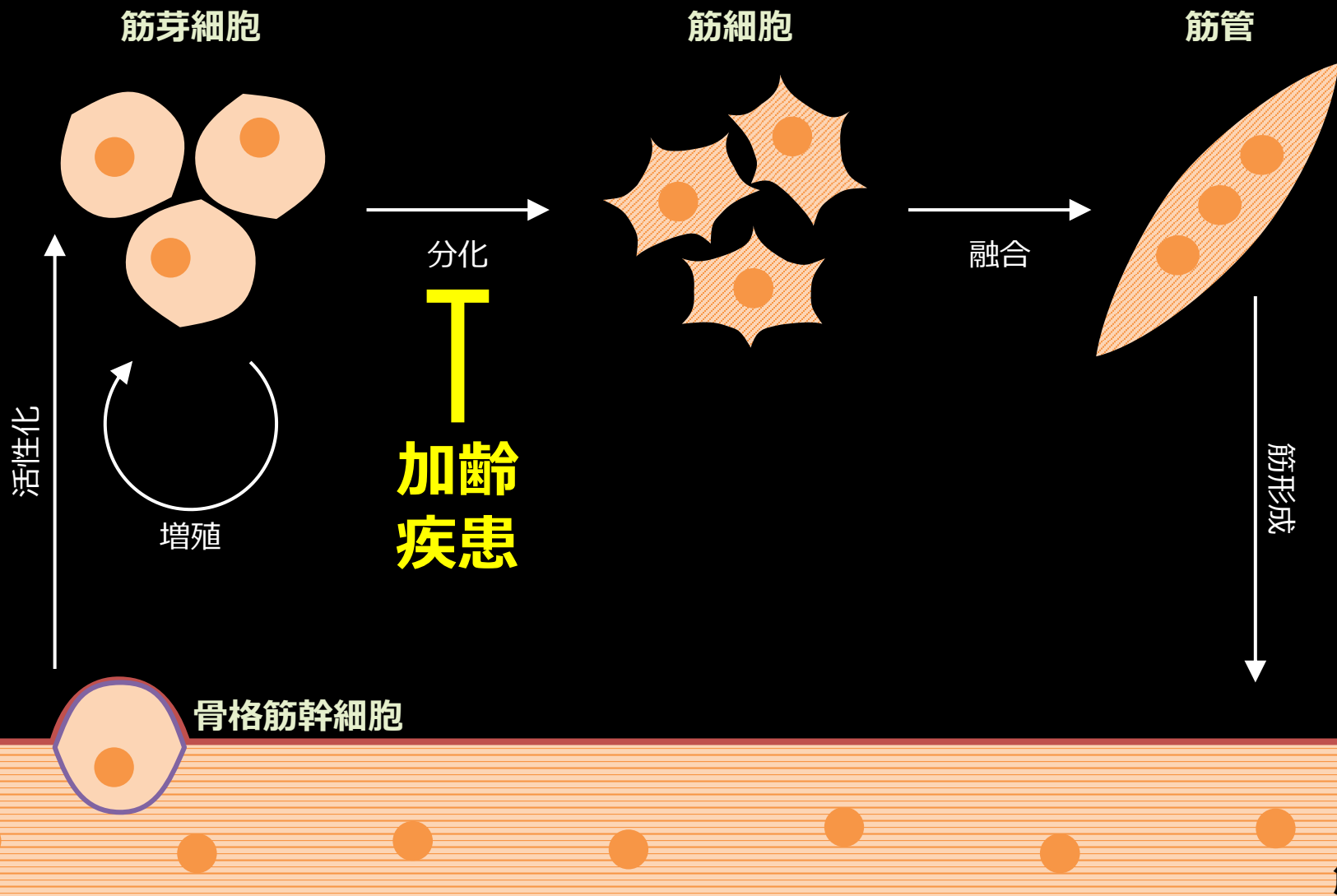
超高齢社会において健康寿命を
阻害する最大の要因

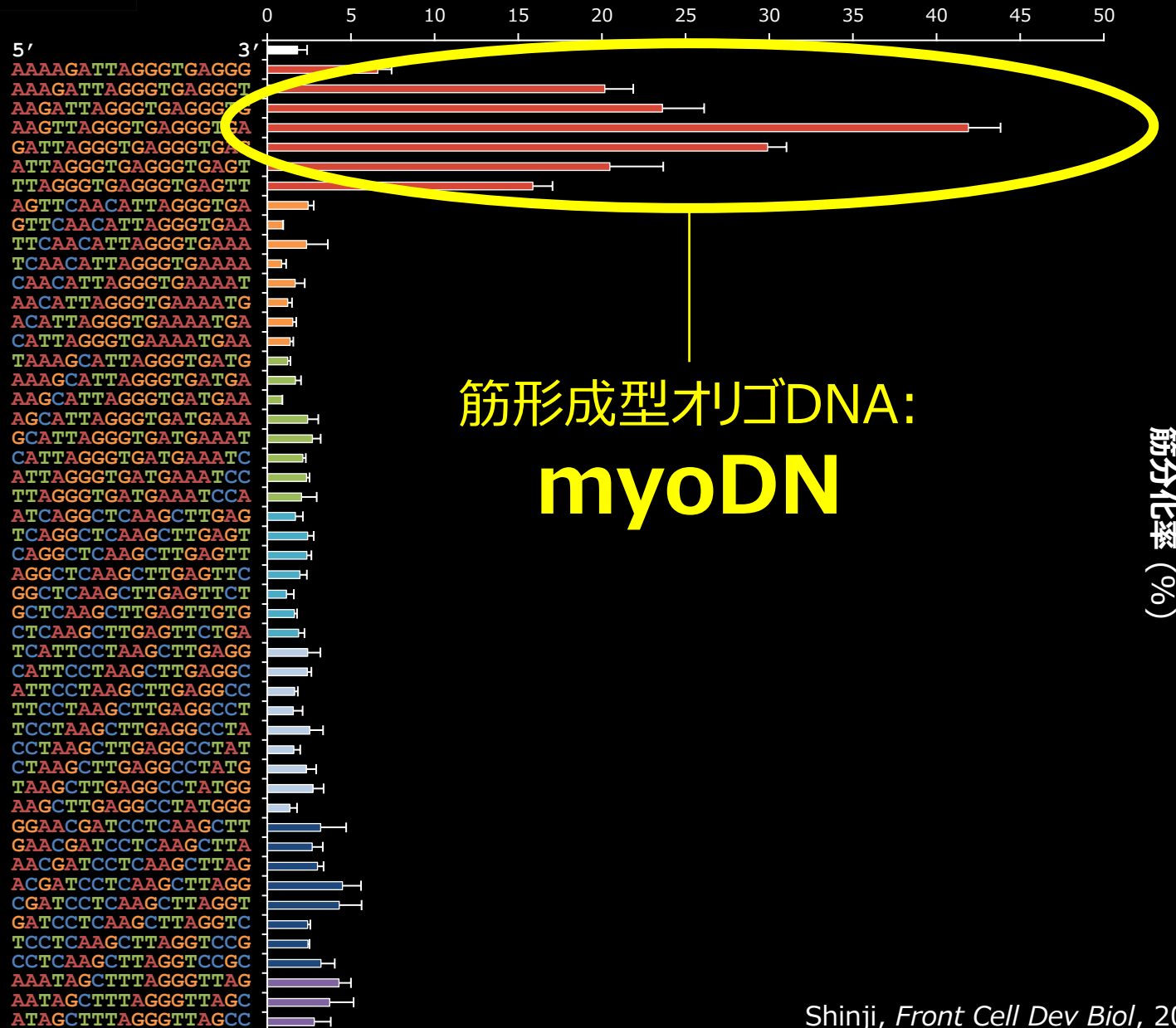
患者数は予備軍も含めて
4000万人以上

有効な治療薬はない



↓ 日常生活動作 (ADL) ・ 生活の質 (QOL) ・ 生命予後





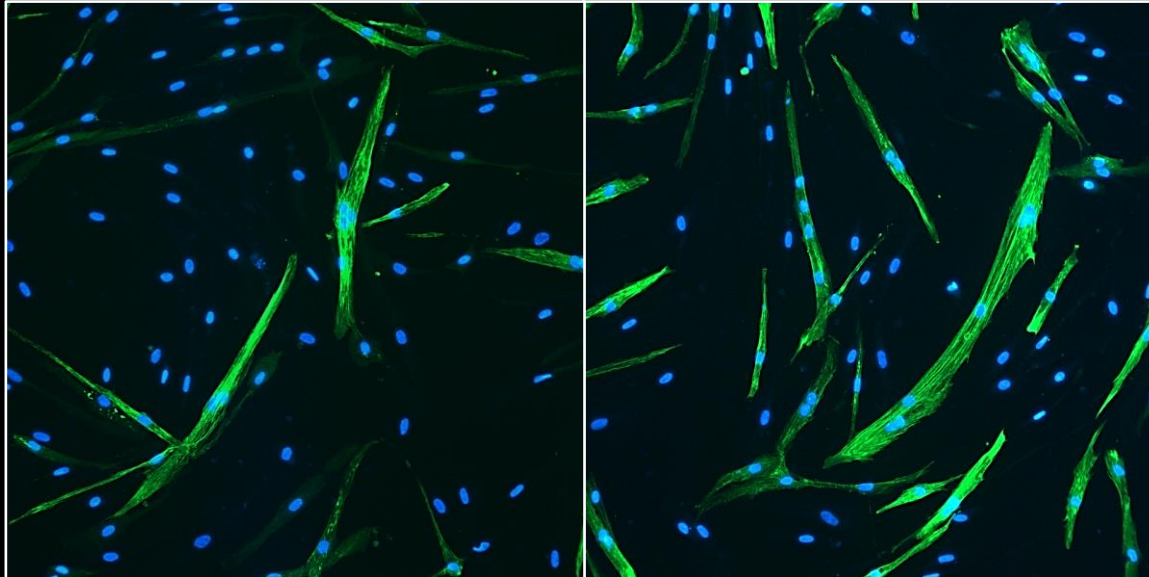
筋分化を促進する筋形成型オリゴDNA

iSN04 AGATTAGGGTGAGGGTGA

対照群

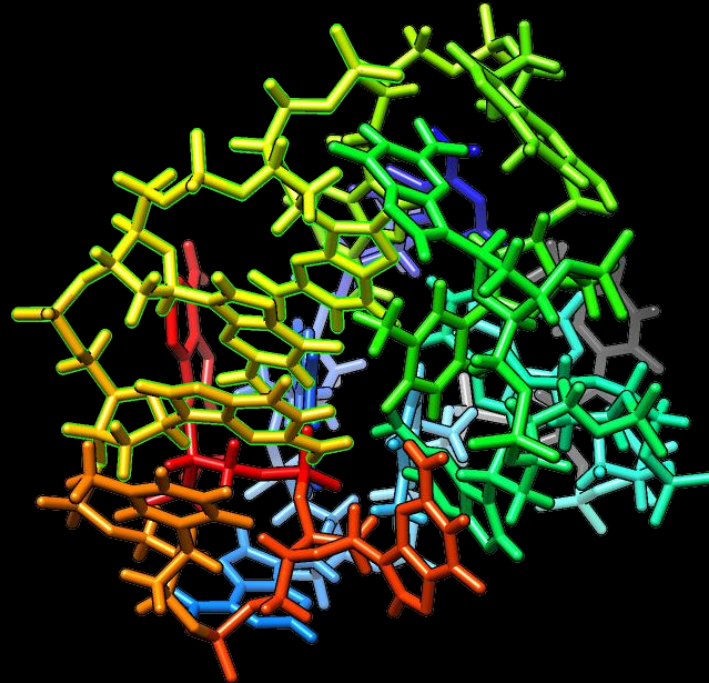
iSN04

MHC : 分化した骨格筋

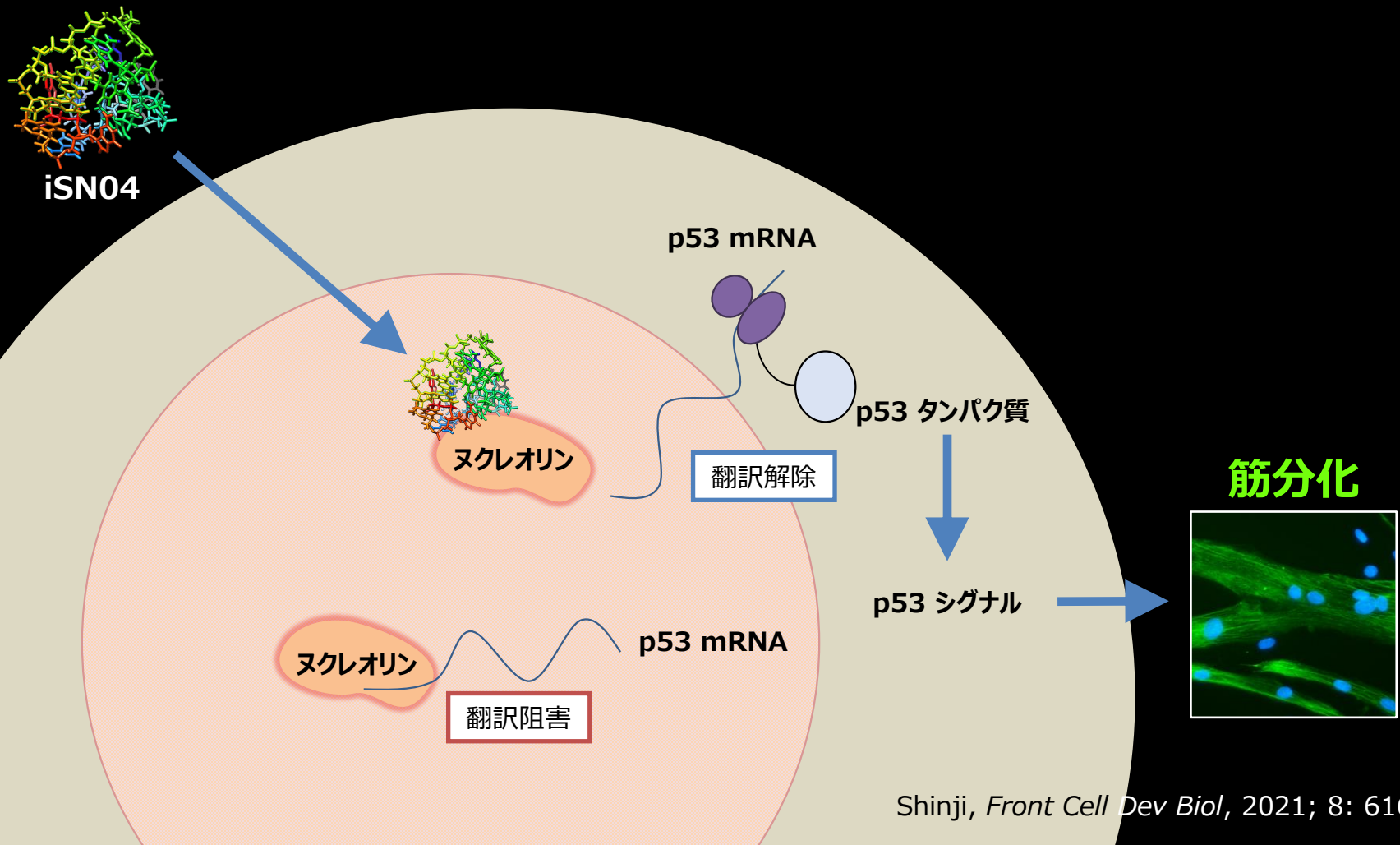


iSN04の立体構造 (シミュレーション)

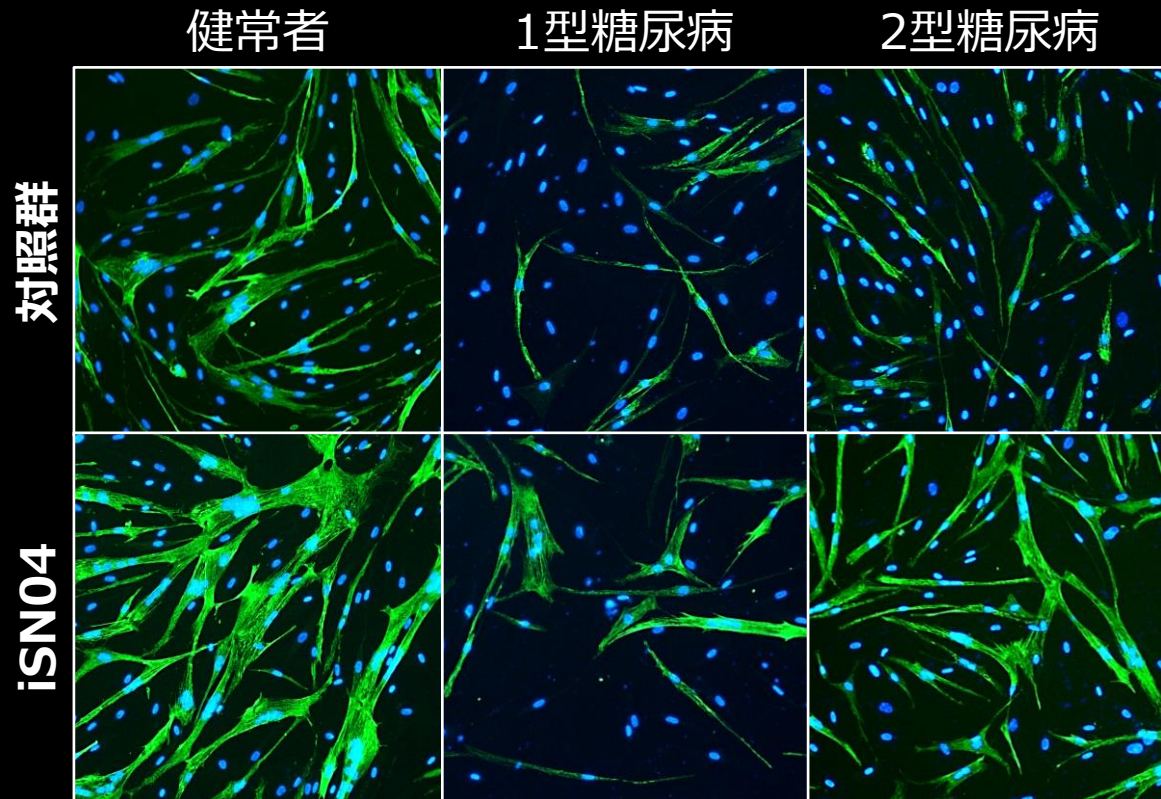
5' - **AGATTAGGGTGAGGGTGA** - 3'



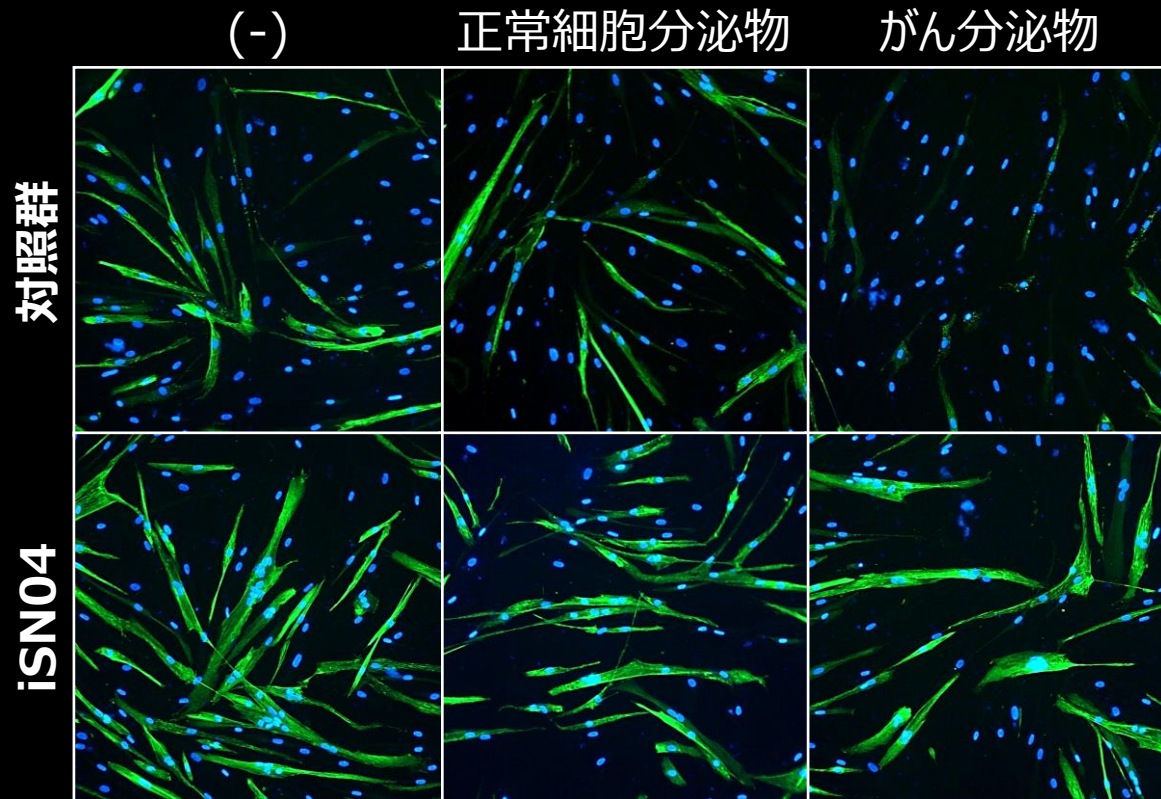
iSN04はヌクレオリンアプタマーとして働く



iSN04は糖尿病患者の筋分化を改善する



iSN04はがんモデルの筋分化を改善する

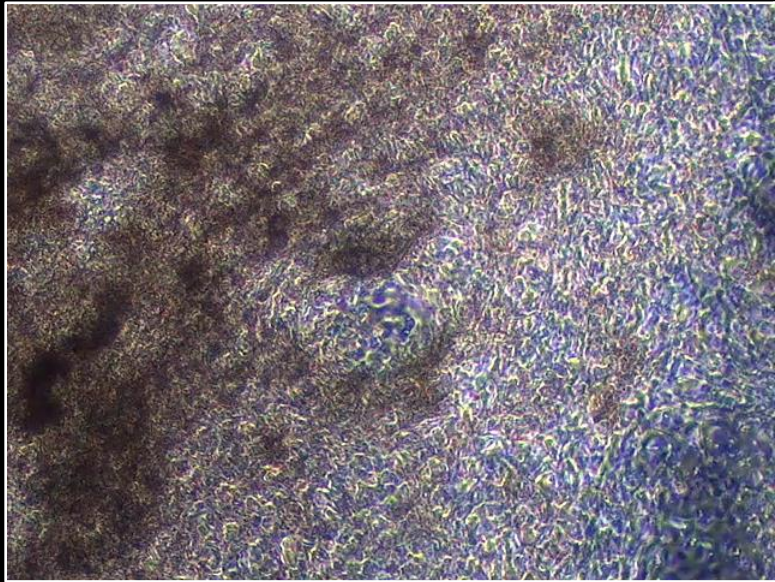




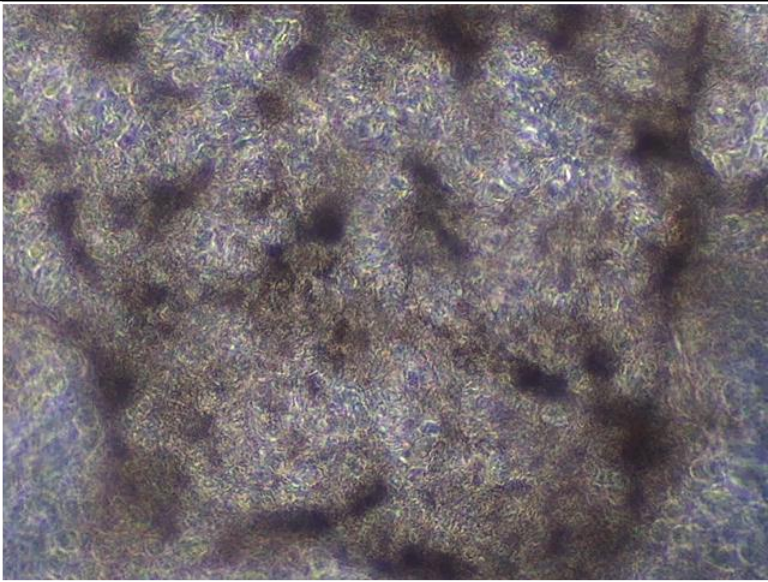
筋形成型オリゴDNA による細胞の運命制御

iSN04はiPS細胞の心筋分化を促進する

対照群



iSN04

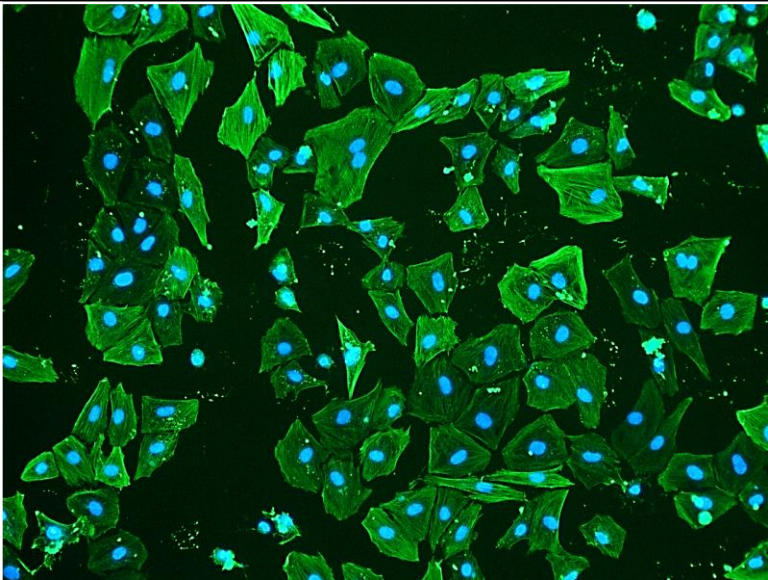
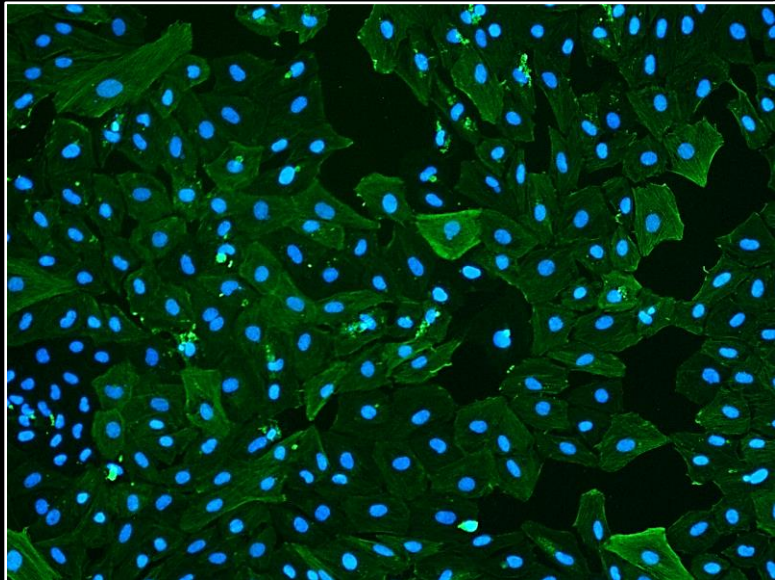


iSN04は血管平滑筋の分化を促進する

対照群

iSN04

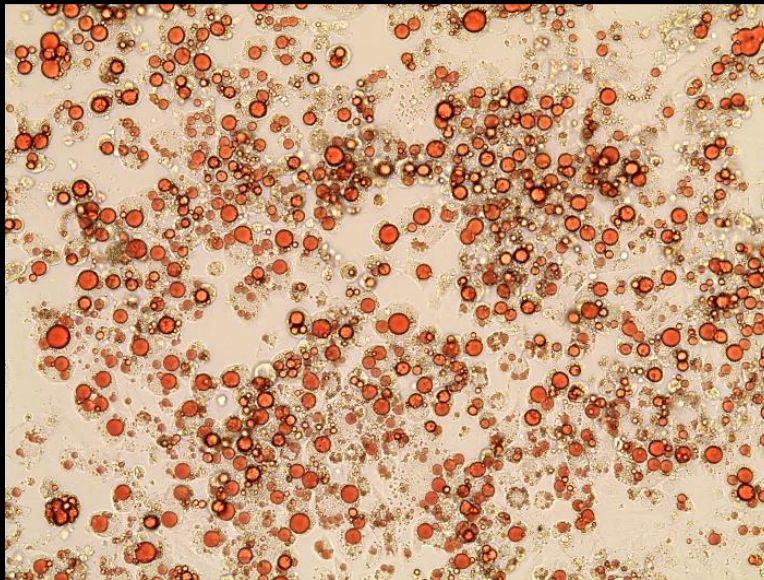
SMA : 分化した平滑筋



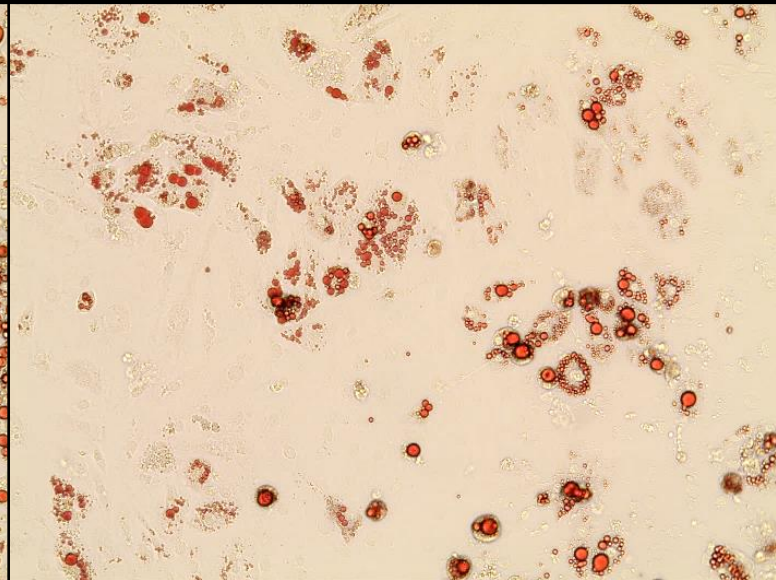
iSN04は脂肪細胞の分化を抑制する

Oil Red : 細胞内の脂肪滴

対照群



iSN04



筋形成型オリゴDNAの用途

筋萎縮の予防・治療

- 加齢性 (サルコペニア)
- 疾患性 (がん・糖尿病・心不全・慢性腎疾患など)

心臓再生医療・心疾患の研究

- 医療：ES/iPS 細胞から移植用の心筋作出
- 研究：心臓病患者 iPS 細胞からの心筋作出

動脈硬化症の予防・治療

- 血管平滑筋の分化促進、および増殖・石灰化の抑制

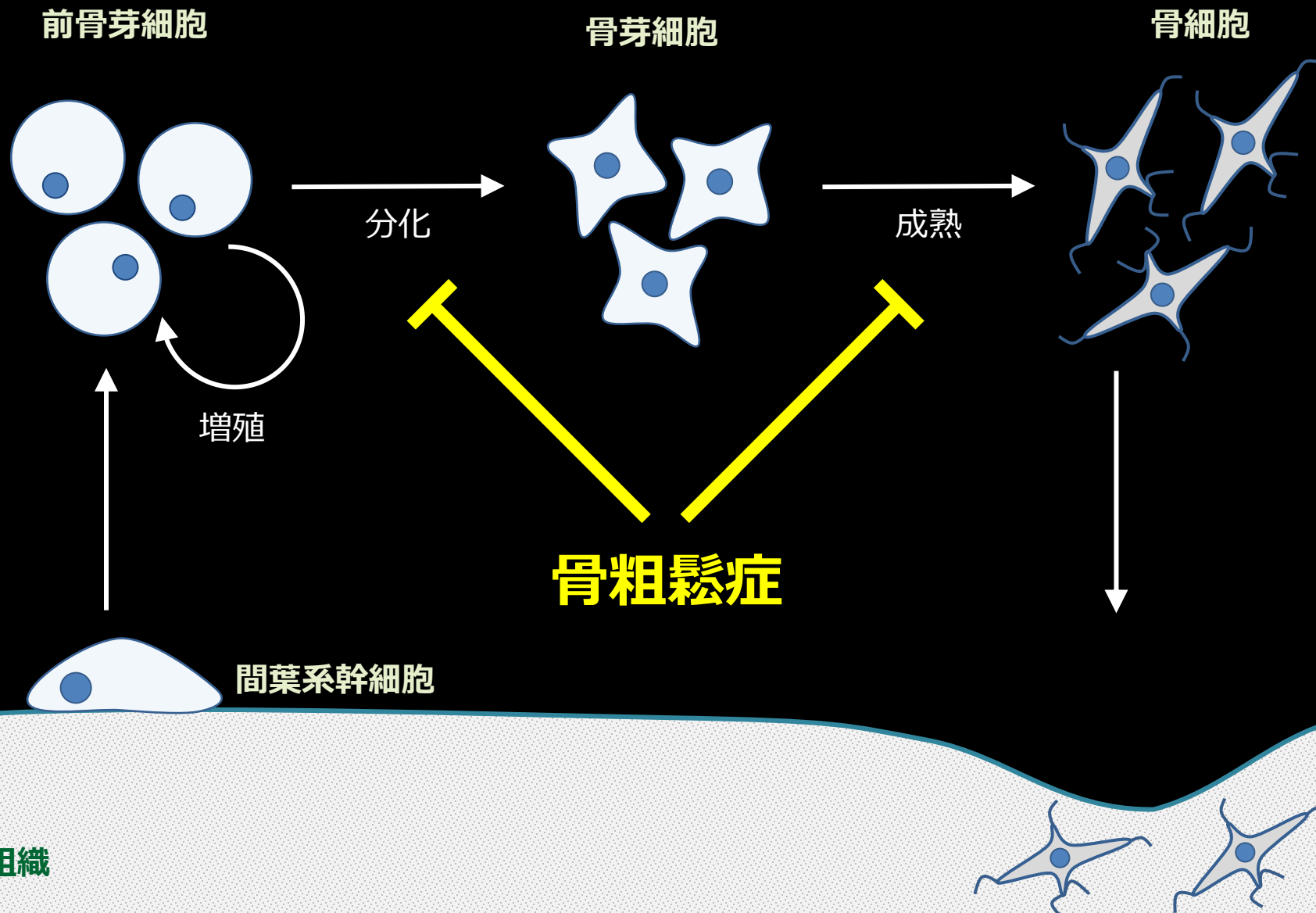
肥満の予防・治療

- 脂肪細胞の分化・成熟の抑制

核酸医薬品・**サプリメント**として服用、**研究試薬**としての利用



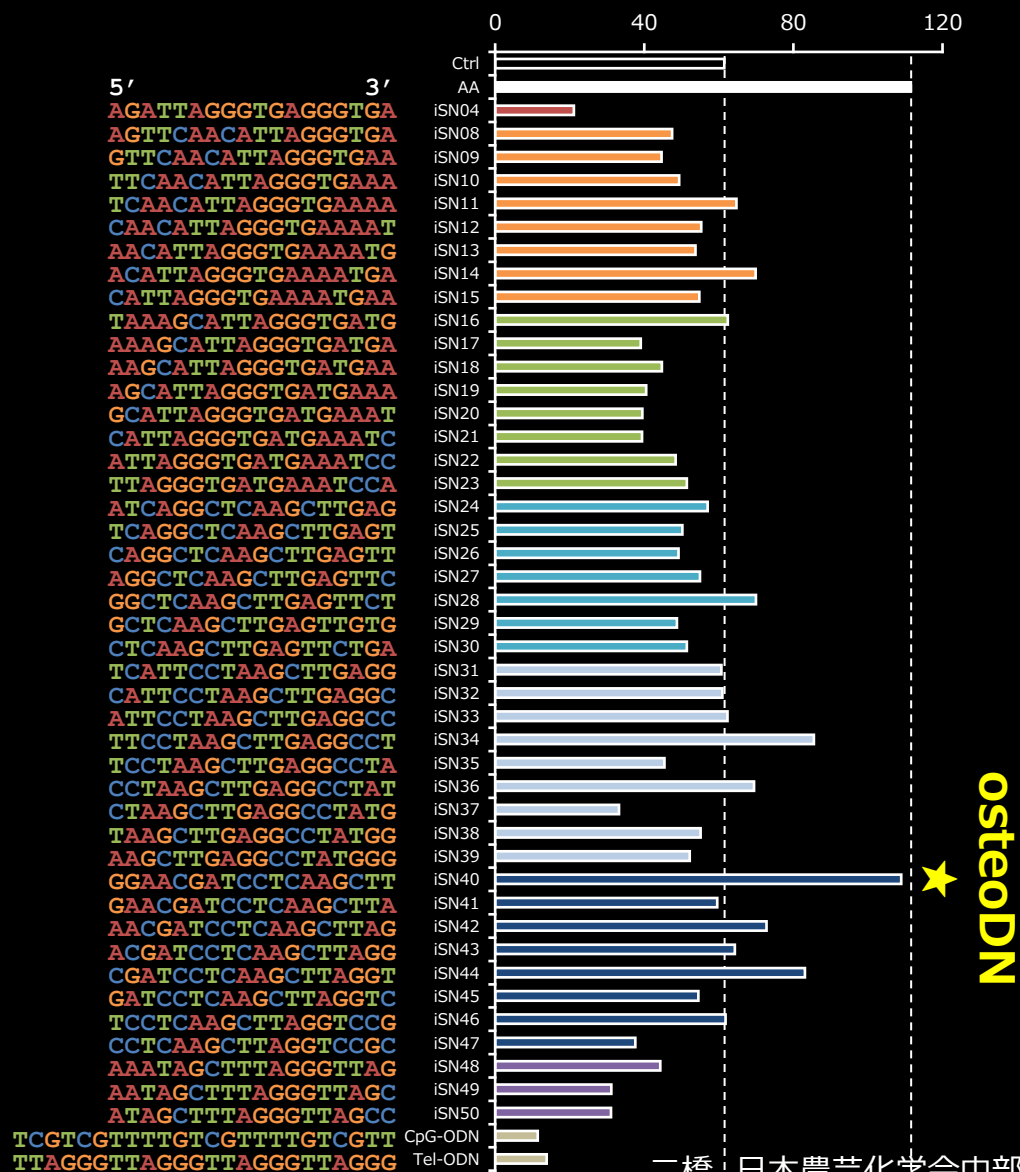
骨形成型オリゴDNA myoDN



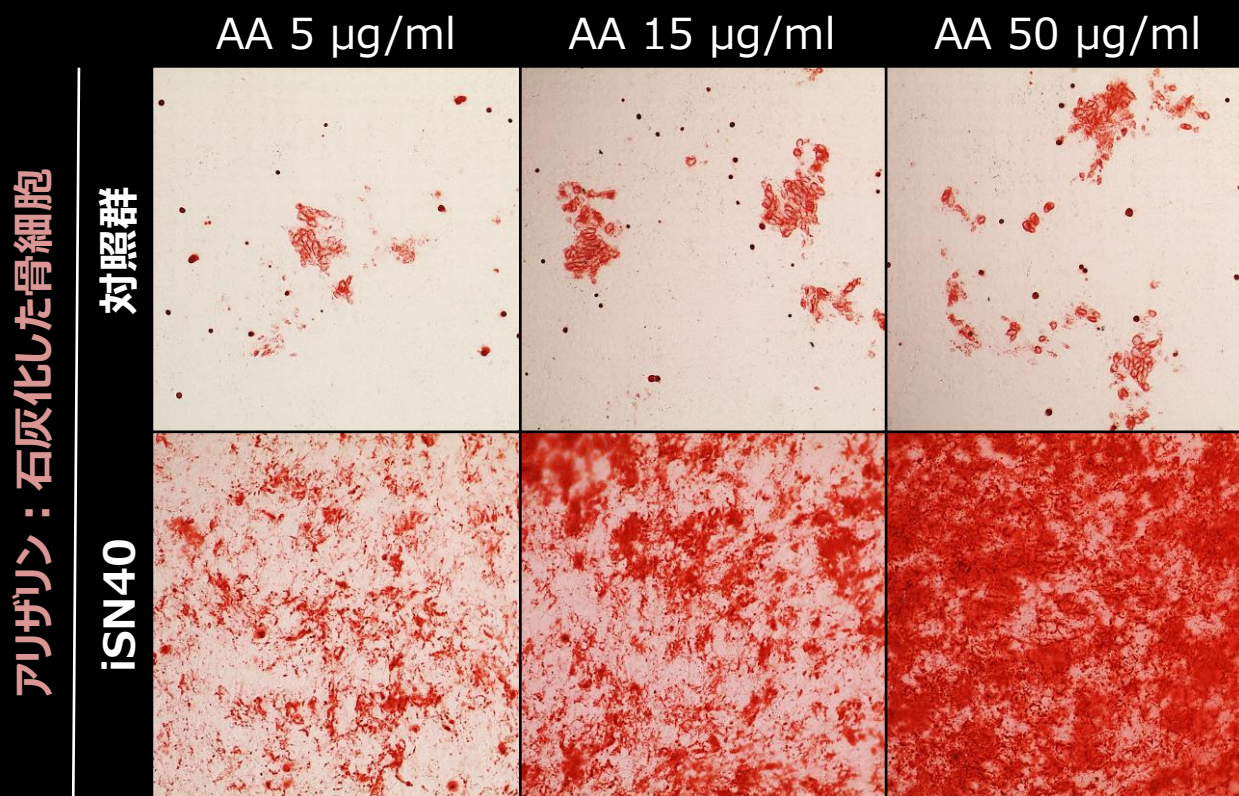
骨形成型オリゴDNAの同定

Ctrl	iSN11	iSN17	iSN23	iSN29	iSN35	iSN41	iSN47
AA	iSN12	iSN18	iSN24	iSN30	iSN36	iSN42	iSN48
iSN04	iSN13	iSN19	iSN25	iSN31	iSN37	iSN43	iSN49
iSN08	iSN14	iSN20	iSN26	iSN32	iSN38	iSN44	iSN50
iSN09	iSN15	iSN21	iSN27	iSN33	iSN39	iSN45	CpG
iSN10	iSN16	iSN22	iSN28	iSN34	iSN40	iSN46	Tel

骨分化 (ALP活性)

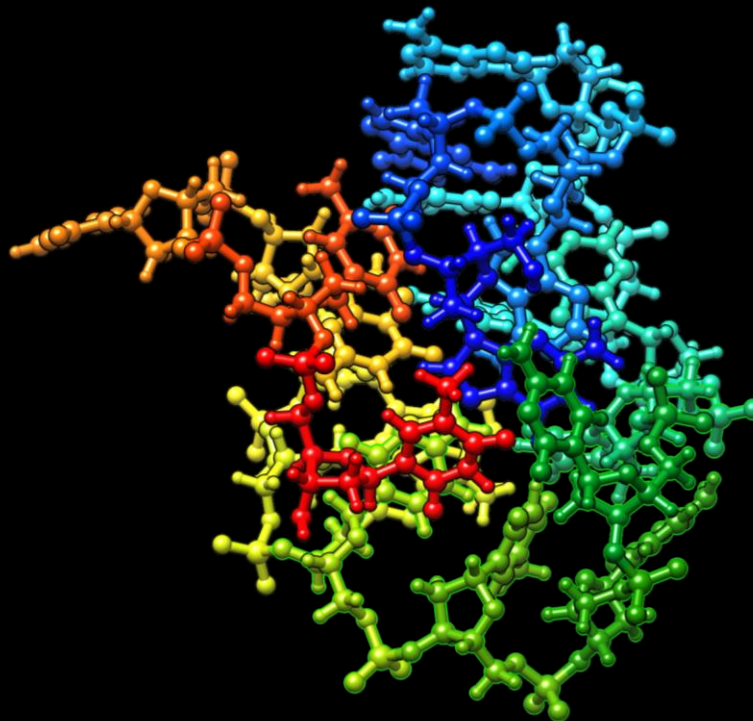


骨形成型オリゴDNAによる石灰化の促進



iSN40の立体構造 (シミュレーション)

5' - GGAACGATCCTCAAGCTT - 3'



骨形成型オリゴDNAの用途

骨芽細胞の分化・石灰化の促進

骨粗鬆症の予防・治療

- 原発性（妊娠性、閉経性、加齢性）
- 続発性（疾患合併型、ステロイド性）

骨再生医療・骨疾患の研究

- 医療：ES/iPS 細胞からの骨細胞作出
- 研究：骨疾患患者 iPS 細胞からの骨細胞作出

核酸医薬品・**サプリメント**として服用、**研究試薬**としての利用



微生物オリゴDNAの 実用化・今後の展望

実用化への課題

筋形成型オリゴDNA

- 生体内での作用・安全性の実証（動物試験）
- 投与方法・標的細胞への送達法の検討（DDS）
- 大量合成技術の確立・コストの削減
 - **塩基配列の短縮**を達成（18塩基 → 12塩基）

骨形成型オリゴDNA

- 標的分子の同定・作用機序の解明
- 破骨細胞への作用の検討
- その後、動物試験へ

微生物オリゴDNAの有用性の確立

- 他の幹細胞に作用する新たなオリゴDNAの同定
- 創薬シーズとしての信頼性・認知の確立

企業への期待

実験動物への投与方法（経口が望ましい）の確立を目的とした、
オリゴ核酸のDDS技術を持つ企業との共同研究

ロコモティブ・シンドローム（筋萎縮・骨粗鬆症）に有効な
核酸医薬品・サプリメントを企画・開発中の企業との、
将来的な臨床試験を目指した連携

ES/iPS細胞を含む幹細胞の分化誘導・制御に関する
研究試薬を開発・販売する企業との提携

幹細胞を標的としたアプタマーに関する共同研究

発表論文等

Shinji S, Umezawa K, Nihashi Y, Nakamura S, Shimosato T, **Takaya T***
Identification of the myogenetic oligodeoxynucleotides (myoDNs) that promote differentiation of skeletal muscle myoblasts by targeting nucleolin.
Front Cell Dev Biol. 2021; **8**: 616706. DOI: 10.3389/fcell.2020.616706

Nakamura S, Yonekura S, Shimosato T, **Takaya T***
Myogenetic oligodeoxynucleotide (myoDN) recovers the differentiation of skeletal muscle myoblasts deteriorated by diabetes mellitus.
Front Physiol. 2021; **12**: 679152. DOI: 10.3389/fphys.2021.679152

高谷智英*

乳酸菌オリゴDNAによる幹細胞の運命制御.

化学と生物. 2021; **59**: 284-289. <https://soar-ir.repo.nii.ac.jp/records/2000241>

研究室ホームページ

<https://t-takaya.net/>

本研究に関する知的財産権 ①

筋分化促進剤、筋分化促進方法、
筋分化促進オリゴDNA、増強剤及びオリゴDNA

特願2018-568609

出願人：信州大学

発明者：高谷智英、下里剛士、梅澤公二

本研究に関する知的財産権 ②

筋分化促進剤促進剤および筋分化促進方法
および筋分化促進オリゴDNA

特願2019-142724

出願人：信州大学

発明者：梅澤公二、高谷智英

本研究に関する知的財産権 ③

心筋分化促進剤、心筋分化促進方法

特願2018-142473

出願人：信州大学

発明者：高谷智英

本研究に関する知的財産権 ④

脂肪分化抑制剤

特願2020-125833

出願人：信州大学

発明者：高谷智英、三谷墨一

本研究に関する知的財産権 ⑤

骨分化促進オリゴヌクレオチド

特願2020-126866

出願人：信州大学

発明者：高谷智英、二橋佑磨、
梅澤公二、下里剛士

お問い合わせ先

株式会社 信州TLO



TEL 0268-25-5181

FAX 0268-25-5188

Mail info@shinshu-tlo.co.jp