

研究テーマ番号	IPSN192001
研究・発明のタイトル	新規転写調節ペプチドを用いた血管再生療法の確立
研究分野	ペプチド医薬、再生医療
1) 研究・発明の概要	<p>1) 閉塞性動脈硬化症や糖尿病性足病変（足潰瘍、足壊疽）等の虚血性疾患は、最終的な治療が四肢切断となりうる深刻な疾患である。これらの疾患に対して血管新生療法の開発が試みられているが、現時点で有効な治療法は確立されていない。一方、繊維芽細胞に ETV2 遺伝子を発現誘導させることで、同細胞を血管内皮細胞へリプログラミングできることが報告されているが、現状この誘導は遺伝子発現ベクターに依っており、ベクター遺伝子がゲノムに取り込まれる可能性を考慮すると臨床実装は難しい。今回、発明者らは、ETV2 遺伝子の塩基配列に結合する DNA 結合ペプチド、転写活性化能を有するペプチド、及び細胞膜透過性ペプチドの 3 種のペプチド断片を連結させた融合ポリペプチドを作製した。これを繊維芽細胞の培養系に添加することで、同細胞を血管内皮細胞様細胞（ETV 細胞）へ誘導し、この ETV 細胞を下肢虚血モデルマウスに移植することで生体内に血管新生を誘導させることに成功した。本法が虚血性疾患の新たな治療法となることが期待される。</p>
2) 成果概要	<p>2) ・本発明では、ETV2 遺伝子プロモーター領域の特定の塩基配列に結合する DNA 結合ペプチド（TALE）と転写活性化能を有する転写活性化因子ペプチド（VP64）に細胞透過性ペプチド（NTP）を連結させた融合ポリペプチド NTP-ATF を作製した。</p> <p>・臍帯由来間葉系幹細胞の培養系に終濃度が 0.25 nM となるよう NTP-ATF を 3 週間持続添加したところ、同細胞の ETV2 及び CD31 遺伝子の発現が顕著に上昇し ETV 細胞へのリプログラミングが認められた。</p> <p>・得られた ETV 細胞の機能性評価を行うべく、右大腿動脈を遠位結紮して作出した下肢障害マウスへ ETV 細胞を 3×10^5 個筋肉注射した。ETV 細胞の移植 3 週間後に超音波装置を用いて下肢における拍動係数（PI 値：動脈から末梢への血液の流れやすさを表す数値で、低値であるほど流れやすいことを示している）を調べた結果、ETV 細胞投与群において PI 値が有意に低下しており、末梢における血流改善が認められた。</p> <p>・また、ETV 細胞移植による下肢障害マウスの下肢壊死へ及ぼす効果を調べた。その結果、移植 1 週間後において、コントロール群では約 7 割の個体で重度の壊死を示したのに対し、ETV 細胞移植群では壊死が認められず、同細胞の移植は壊死の治療や予防に有効であることが示された。</p> <p>・さらに、下肢障害マウスへの ETV 細胞移植が運動機能へ及ぼす効果を調べるために、ETV 細胞移植 2～3 週間後に、ローターロッド試験を行った。</p>



3) 適用分野・目標 4) 今後の研究予定	<p>その結果、ETV 細胞移植群において運動機能障害の改善効果が認められた。</p> <ul style="list-style-type: none">・ ETV 細胞の血管新生誘導能を調べるため、下肢障害マウスへ ETV 細胞を移植し 2 週間経過したマウスの CT 画像を取得した。ETV 細胞移植したマウス全例において、コントロール群では認められない結紮部周辺や末梢部位における顕著な血管新生が確認された。ETV 細胞が生体内に生着しかつ機能することで血管新生が誘導されることが明らかとなった。・ 直近の実験において、同様の方法で、ヒト線維芽細胞から血管内皮様細胞を作製できることが分かり、この方法が安全な血管新生療法として幅広く使用できる可能性が期待される。 <p>3) 閉塞性動脈硬化症や糖尿病性足病変等の虚血性疾患 4) ETV 細胞の血管新生誘導能を高める培養条件の検討など</p>
希望する提携の種類	アウトライセンス、共同研究、委託研究
特許出願の予定	出願済
関連特許の出願の有無	無
学会発表の予定	無
共同研究の有無	有
紹介時の希望事項	臨床治験を経た後、保険収載までを視野に入れた共同開発を望む。

註：本資料は知的財産戦略ネットワーク（株）が全ての権利を有しており、本目的外の使用を禁ずる。