

Title	RNA Aptamer Binds Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor with High Affinity and Specificity and Neutralizes Its Activity
Author(s)	山戸, 昌樹
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69238
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山戸 昌樹	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 坂田 泰史
	副 査 大阪大学教授 金井 好克
	副 査 大阪大学教授 梁 亦 宏 臭
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>ヘパリン結合上皮増殖因子様増殖因子 (HB-EGF) は、膜結合型タンパクとして合成され、メタロプロテアーゼにより主にEGF受容体 (EGFR) のリガンドとして作用する分泌型HB-EGFが切り離される。HB-EGFは癌や動脈硬化、心肥大の進展に関与することが報告されている。</p> <p>一方、特定の標的分子に特異的に結合する核酸アプタマーは、抗体に比べ優れた点を有し、化学修飾も行いやすい特徴がある。本研究の目的は、HB-EGFを標的としたアプタマーを獲得し、HB-EGFを介したEGFRのリン酸化の抑制効果を検討することである。</p> <p>研究の結果、数種類のアプタマーの取得に成功し、その一つはHB-EGFに対して高い結合能と特異性を有することを確認した。培養細胞を用いて、HB-EGFによるEGFRのリン酸化は、抗HB-EGFアプタマーによって抑制されることが明らかになった。</p> <p>抗HB-EGFアプタマーは、癌や動脈硬化、心肥大の進展に対して抑制的に働くことが期待され、本論文は学位に値すると思う。</p>	

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	山戸 昌樹
論文題名 Title	RNA Aptamer Binds Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor with High Affinity and Specificity and Neutralizes Its Activity (RNAアプタマーがヘパリン結合上皮増殖因子様増殖因子 (HB-EGF) に高い親和性と特異性を持って結合し、その活性を中和する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 近年、高齢化や虚血性心疾患を原因とした心不全患者の著明な増加が認められる。しかし、既存の内科的治療法による予後改善効果は限定的であり、新たな心不全治療薬の開発が望まれる。我々は、網羅的遺伝子解析により、マウス心臓圧負荷モデル (圧負荷不全心) においてヘパリン結合上皮増殖因子様増殖因子 (HB-EGF) の発現が著しく増加していることを見出し、ヒト心不全患者サンプルにおいてもHB-EGFの発現が増加していることを確認した。膜結合型HB-EGFは、EGF受容体のリガンドとして作用する分泌型HB-EGFの前駆体であるのみならず、ジフテリア毒素が細胞内に侵入する際に、受容体としても作用する。HB-EGFは卵巣癌や乳癌で発現が増加し、腫瘍細胞増殖に関与することが報告されている。また、動脈硬化巣における発現増加が報告されており、HB-EGFが癌増殖や動脈硬化進展に関与することが示唆されている。 一方、特定の標的分子に特異的に結合する核酸アプタマーは、試験管内で化学合成が可能であり、抗体に比べ安価に製造可能であり、化学修飾も行いやすいため、次世代医薬品として開発が進んでいる。本研究の目的は、心不全や癌、動脈硬化に関与するHB-EGFを標的としたアプタマーを獲得し、その細胞増殖抑制効果を検討することである。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) 法によってHB-EGFに対する数種類のアプタマーの取得に成功した。取得したアプタマーの一つは、水晶振動子マイクロバランス法によってHB-EGFと高い結合能を、ドットプロット法によって特異性を有することを確認した。Vero細胞とHB-EGFを高発現させたVero-H細胞を用いて、抗HB-EGF抗体と抗HB-EGFアプタマーで免疫染色を行い、抗HB-EGFアプタマーは抗HB-EGF抗体と同様に細胞膜上に発現した膜結合型HB-EGFと結合することを確認した。ヒトEGF受容体を高発現させたマウス32D細胞を用いて、HB-EGFによるEGF受容体のリン酸化は、抗HB-EGFアプタマーによって抑制されることが明らかになった。EGF受容体のリン酸化を抑制したことで、抗HB-EGFアプタマーは細胞増殖抑制作用を有する可能性が示唆された。	
〔総括(Conclusion)〕 細胞増殖抑制作用を有する抗HB-EGFアプタマーを取得した。本アプタマーは細胞増殖抑制作用を介して、癌や動脈硬化に対して抗癌作用や動脈硬化進展抑制作用を有することが期待される。また、不全心特異的に細胞内送達するdrug delivery systemのキャリアーとしても期待される。	