

平成 2 8 年 度 委 託 実 験 調 査 成 果 報 告 書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名：(日本語) 異所性石灰化抑制剤の開発
(英語) Development of an anti-ectopic calcification agent

実験調査担当者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授 吉子裕二
所属 役職 氏名：(英語) Hiroshima University Institute of Biomedical & Health Sciences,
Professor, Yuji Yoshiko

実施期間：平成 2 8 年 4 月 1 日 ～ 平成 2 9 年 3 月 3 1 日

II. 成果の概要

- 骨基質タンパク質 MEPE 由来のリン酸化ペプチドフラグメント ASARM (Acidic Serine Aspartate-Rich Motif) (pASARM) は骨髄微小環境に放出され、骨の石灰化を抑止すると考えられる。
 - 本事業では pASARM あるいはその PEG 化誘導体の異所性石灰化抑制剤としての可能性を以下の通り評価した。
 - 純度 95%以上で合成し、有効性・安定性を *in vitro* 石灰化モデルで確認した。
 - 浸透圧ポンプを利用し、マウスに静脈内持続投与したところ、骨格筋内の BMP2 誘導性異所性石灰化を抑制した。
 - 上記モデルにおいて、pASARM の PEG 化による優位性は観察されなかった。
 - 高用量の pASARM を正常マウスに静脈内投与した場合、血中リン酸濃度、カルシウム濃度、骨量、骨代謝マーカーに影響を与えず、骨、主要臓器の組織所見に特筆すべき変化は認められなかった。
 - LC-MS/MS を用い、静脈内投与したマウスの血中 pASARM を検出することができたが、異所性石灰化の有効濃度を測定する感度は得られなかった。
 - *In vitro* 血管石灰化モデルを用い、pASARM により変動する遺伝子を網羅的に解析したところ、細胞外基質からのシグナルが関与する遺伝子群が影響を受けると推測された。
-
- Phosphorylated ASARM (Acidic Serine Aspartate-Rich Motif) (pASARM), a peptide fragment of the bone matrix protein MEPE, is thought to be released into the skeletal microenvironment and acts as an anti-mineralization factor.
 - In this project, we evaluated pASARM and/or its derivatives as an anti-ectopic mineralization agent as follows.
 - We synthesized pASARM and PEG-conjugated pASARM (PEG-pASARM) with greater than 95% purity and confirmed their effects on matrix mineralization *in vitro*.
 - When injected intravenously from s.c. implanted osmotic pump, pASARM and PEG-pASARM inhibited BMP2-induced ectopic mineralization in a mouse muscle pouch model.
 - PEGylation was not valuable to enhance the effect of pASARM in this model.
 - Mice received i.v. pASARM at a high concentration did not show significant changes not only in serum calcium and phosphate and bone markers, but also in histology of major organs including bone.
 - LC-MS-MS could detect pASARM in sera from mice given an intravenous injection of pASARM. However, the improvement of LC-MS-MS was still needed to detect serum pASARM levels at pharmacological doses.
 - Finally, comprehensive analysis of mRNA expression in mouse vascular mineralization *in vitro* suggests that pASARM may have a significant effect on extracellular matrix signals.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）

なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし