

論文内容の要旨

報告番号	空欄	氏名	酒井 和哉
Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab			
(和訳)			
von Willebrand factor の A1 domain に対する新規 aptamer (TAGX-0004) は ARC1779 よりも強く、caplacizumab と同等に血栓形成を阻害する			

論文内容の要旨

von Willebrand factor (VWF) は A1 domain を介して血小板の glycoprotein Ib (GPIb) と結合し血小板血栓形成に寄与する。心筋梗塞などの動脈血栓症では VWF-血小板血栓が病態に関与しており、VWFA1 阻害薬が新規治療薬として開発されている。核酸 aptamer は立体構造をとる一本鎖オリゴヌクレオチドであり、標的タンパクに結合し生理活性を制御する。今回、本邦のベンチャー企業が開発した人工塩基 Ds を用いた抗ヒト VWF A1 核酸 aptamer (TAGX-0004) について、抗 VWFA1 阻害薬 ARC1779 および caplacizumab を比較対象として、その血栓性形成阻害能の比較を行った。また、alanine scanning mutagenesis を用いた VWF A1 変異タンパクを 16 種類合成し、これら抗 VWF A1 阻害薬の VWF A1 結合部位についても検討した。

静止系血小板凝集検査である ristocetin および botrocetin 惹起血小板凝集能検査では TAGX-0004 はともに終濃度 50nM で完全凝集阻害を示した。ARC1779 ではともに終濃度 500nM、caplacizumab では終濃度 10nM、50nM の順に完全凝集阻害が得られた。一方、T-TAS による予り応力下血小板凝集検査では、TAGX-0004 および caplacizumab はともに終濃度 50nM で完全凝集阻害がみられた。しかし、ARC1779 では終濃度 1000nM の高濃度においても部分凝集に留まった。これらの結果より、*ex vivo* における TAGX-0004 の血栓形成阻害能は ARC1779 よりも強く、caplacizumab と同等であることが示された。

electrophoretic mobility shift assay による VWF A1 binding assay では TAGX-0004 の結合部位として R1395、R1399、F1366 の 3 アミノ酸残基が、ARC1779 の結合部位として R1287、K1362、R1392、R1395、R1399 の 5 アミノ酸残基が同定された。また、surface plasmon resonance 法を用いた VWF A1 binding assay では caplacizumab の結合部位として K1362、R1392、R1395、R1399 そして K1406 の 5 アミノ酸残基が同定された。F1366 は疎水性アミノ酸であり、TAGX-0004 を形成する疎水性人工塩基 Ds との間で pi-stacking effect により非常に強い親和性を呈すると推測された。