

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-184450

(P2008-184450A)

(43) 公開日 平成20年8月14日(2008.8.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/713 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/713 Z N A	4 B 0 2 4
<b>C 1 2 Q 1/02 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
<b>C 1 2 N 5/10 (2006.01)</b>	C 1 2 N 5/00 B	4 B 0 6 5
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 A	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 31/7105 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7105	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 請求項の数 11 O L		(全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-20893 (P2007-20893)  
 (22) 出願日 平成19年1月31日 (2007.1.31)

(71) 出願人 504013775  
 学校法人 埼玉医科大学  
 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38  
 (74) 代理人 100107515  
 弁理士 廣田 浩一  
 (74) 代理人 100107733  
 弁理士 流 良広  
 (74) 代理人 100115347  
 弁理士 松田 奈緒子  
 (72) 発明者 水野 洋介  
 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校  
 法人埼玉医科大学 ゲノム医学研究センタ  
 ー内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 間葉系細胞の分化抑制剤及び分化促進剤、並びに医薬及びスクリーニング方法

(57) 【要約】

【課題】 間葉系細胞の分化に關与する m i R N A について新たな知見を得、前記知見を利用して、間葉系細胞の分化を制御（抑制／促進）するための薬剤、及び前記薬剤を利用した医薬、並びに間葉系細胞の分化を制御（抑制／促進）する作用を有する物質のスクリーニング方法を提供すること。

【解決手段】 m i R 1 2 5 b 及びその前駆体の少なくともいずれかを有効成分とする間葉系細胞の分化抑制剤、及び前記分化抑制剤を利用した医薬； m i R 1 2 5 b の機能を低下させる作用を有する物質を有効成分とする間葉系細胞の分化促進剤、及び前記分化促進剤を利用した医薬； m i R 1 2 5 b の機能の向上を指標とした間葉系細胞の分化を抑制する作用を有する物質のスクリーニング方法；並びに、 m i R 1 2 5 b の機能の低下を指標とした間葉系細胞の分化を促進する作用を有する物質のスクリーニング方法；である。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

miR125b 及びその前駆体の少なくともいずれかを有効成分とすることを特徴とする間葉系細胞の分化抑制剤。

## 【請求項 2】

間葉系細胞が、骨芽細胞及び脂肪細胞の少なくともいずれかである請求項 1 に記載の間葉系細胞の分化抑制剤。

## 【請求項 3】

miR125b の機能を低下させる作用を有する物質を有効成分とすることを特徴とする間葉系細胞の分化促進剤。

## 【請求項 4】

miR125b の機能を低下させる作用を有する物質が、miR125b 及びその前駆体の少なくともいずれかの相補鎖である請求項 3 に記載の間葉系細胞の分化促進剤。

## 【請求項 5】

間葉系細胞が、骨芽細胞及び脂肪細胞の少なくともいずれかである請求項 3 から 4 のいずれかに記載の間葉系細胞の分化促進剤。

## 【請求項 6】

間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患を治療又は予防するための医薬であって、請求項 1 から 2 のいずれかに記載の間葉系細胞の分化抑制剤を含むことを特徴とする医薬。

## 【請求項 7】

間葉系細胞が脂肪細胞であり、疾患が肥満、糖尿病、高脂血症、及び高血圧からなる群より選択される少なくともいずれかである請求項 6 に記載の医薬。

## 【請求項 8】

間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患を治療又は予防するための医薬であって、請求項 3 から 5 のいずれかに記載の間葉系細胞の分化促進剤を含むことを特徴とする医薬。

## 【請求項 9】

間葉系細胞が骨芽細胞であり、疾患が骨粗鬆症、骨形成不全、及び発達期における成長阻害からなる群より選択される少なくともいずれかである請求項 8 に記載の医薬。

## 【請求項 10】

間葉系細胞の分化を抑制する作用を有する物質のスクリーニング方法であって、miR125b の機能の向上を指標とすることを特徴とするスクリーニング方法。

## 【請求項 11】

間葉系細胞の分化を促進する作用を有する物質のスクリーニング方法であって、miR125b の機能の低下を指標とすることを特徴とするスクリーニング方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、間葉系細胞の分化を制御（抑制／促進）するための薬剤、及び前記薬剤を利用した医薬、並びに間葉系細胞の分化を制御（抑制／促進）する作用を有する物質のスクリーニング方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

miRNA（マイクロRNA、microRNA）は、細胞内在性の、20～25塩基程度の非コードRNAである。miRNAは、ゲノムDNA上のmiRNA遺伝子から、まず数百～数千塩基程度の長さの一次転写物（pri-miRNA）として転写され、次いで、プロセシングを受け、約60～70塩基程度のヘアピン構造を有するpre-miRNAとなる。その後、核から細胞質内に移り、更にプロセシングを受けて、20～25塩基程度の二本鎖の成熟miRNAとなる。成熟miRNAは、そのうちの一本鎖がRISCと呼ばれるタンパク質と複合体を形成し、標的遺伝子のmRNAに作用することで、標的遺伝子の翻訳を阻害する働きをすることが知られている（例えば、非特許文献1参照

10

20

30

40

50

)。

【0003】

miRNAは、ヒトやマウス等で約400種類が知られており、それぞれが複数の標的遺伝子の発現を調節し、細胞の増殖や分化など、様々な生命現象に関与することが示唆されている。例えば、神経細胞の分化、血液細胞の分化などに関与するmiRNAについて報告がある(例えば、非特許文献2~3参照)。また、癌細胞の増殖に関与するmiRNAについても報告があり、前記miRNAの発現パターンを癌の臨床診断に利用することや、前記miRNAの発現を制御することで癌細胞の増殖を抑制する癌の治療方法等について、提案がなされている(例えば、特許文献1~2参照)。

しかしながら、骨芽細胞、脂肪細胞等の間葉系細胞の分化に関与するmiRNAについては、従来報告が無いのが現状である。

【0004】

【特許文献1】特開2005-192484号公報

【特許文献2】特開2006-506469号公報

【非特許文献1】Nature Reviews Genetics 5, 522-531 (2004)

【非特許文献2】Stem Cells Vol. 24 No. 4 April 2006, pp. 857-864

【非特許文献3】Science 2 January 2004: Vol. 303. no. 5654, pp. 83-86

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、前記従来における諸問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。即ち、本発明は、間葉系細胞の分化に関与するmiRNAについて新たな知見を得、前記知見を利用して、間葉系細胞の分化を制御(抑制/促進)するための薬剤、及び前記薬剤を利用した医薬、並びに間葉系細胞の分化を制御(抑制/促進)する作用を有する物質のスクリーニング方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

前記課題を解決するため、本発明者らは鋭意検討した結果、以下のような知見を得た。即ち、miRNAの1種であるmiR125b(miRNA-125b)が、骨芽細胞や脂肪細胞の分化を抑制する機能を有しているという知見である。骨芽細胞、脂肪細胞等の間葉系細胞の分化にmiRNAが関与しているとする報告は従来には無く、前記知見は、本発明者らによる新たな知見である。

前記miR125bが骨芽細胞や脂肪細胞の分化を抑制するメカニズムの詳細は未だ明らかではないが、Osterix、BMPR2、Schnurri2等の骨芽細胞分化や脂肪細胞分化に重要な役割を果たす遺伝子を標的とし、それらの翻訳を阻害することによって、骨芽細胞分化や脂肪細胞分化を効果的に抑制しているメカニズムが考えられる(実施例参照、後述)。

【0007】

本発明は、本発明者らによる前記知見に基づくものであり、前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。即ち、

<1> miR125b及びその前駆体の少なくともいずれかを有効成分とすることを特徴とする間葉系細胞の分化抑制剤である。

<2> 間葉系細胞が、骨芽細胞及び脂肪細胞の少なくともいずれかである前記<1>に記載の間葉系細胞の分化抑制剤である。

<3> miR125bの機能を低下させる作用を有する物質を有効成分とすることを特徴とする間葉系細胞の分化促進剤である。

<4> miR125bの機能を低下させる作用を有する物質が、miR125b及び

10

20

30

40

50

その前駆体の少なくともいずれかの相補鎖である前記<3>に記載の間葉系細胞の分化促進剤である。

<5> 間葉系細胞が、骨芽細胞及び脂肪細胞の少なくともいずれかである前記<3>から<4>のいずれかに記載の間葉系細胞の分化促進剤である。

<6> 間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患を治療又は予防するための医薬であって、前記<1>から<2>のいずれかに記載の間葉系細胞の分化抑制剤を含むことを特徴とする医薬である(第1の医薬)。

<7> 間葉系細胞が脂肪細胞であり、疾患が肥満、糖尿病、高脂血症、及び高血圧からなる群より選択される少なくともいずれかである前記<6>に記載の医薬である。

<8> 間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患を治療又は予防するための医薬であって、前記<3>から<5>のいずれかに記載の間葉系細胞の分化促進剤を含むことを特徴とする医薬である(第2の医薬)。

<9> 間葉系細胞が骨芽細胞であり、疾患が骨粗鬆症、骨形成不全、及び発達期における成長阻害からなる群より選択される少なくともいずれかである前記<8>に記載の医薬である。

<10> 間葉系細胞の分化を抑制する作用を有する物質のスクリーニング方法であって、miR125bの機能の向上を指標とすることを特徴とするスクリーニング方法である(第1のスクリーニング方法)。

<11> 間葉系細胞の分化を促進する作用を有する物質のスクリーニング方法であって、miR125bの機能の低下を指標とすることを特徴とするスクリーニング方法である(第2のスクリーニング方法)。

【発明の効果】

【0008】

本発明によると、従来における諸問題を解決することができ、間葉系細胞の分化に關与するmiRNAについて新たな知見を得ることができ、前記知見を利用して、間葉系細胞の分化を制御(抑制/促進)するための薬剤、及び前記薬剤を利用した医薬、並びに間葉系細胞の分化を制御(抑制/促進)する作用を有する物質のスクリーニング方法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

(間葉系細胞の分化抑制剤)

本発明の間葉系細胞の分化抑制剤は、miR125b及びその前駆体の少なくともいずれかを有効成分として含有し、更に必要に応じてその他の成分を含有してなる。

【0010】

<有効成分>

- miR125b -

miR125b(miRNA-125b)は、その成熟型配列がUCCUGAGACCCUAACUUGUGA(配列番号:1)で表されるマイクロRNAである(miR125bの成熟型配列はマウス、ヒト等で保存されている)。本発明者らは今回、このmiR125bが、間葉系細胞の分化を抑制する機能を有することを見出し(実施例参照、後述)、間葉系細胞の分化抑制剤の有効成分として好適に利用可能であることを見出した。

したがって、前記有効成分として使用される前記miR125bとしては、例えば、従来知られている成熟型のmiR125b(前記配列番号:1)を適宜利用することができる。前記成熟型miR125bは、例えば、従来公知の手法を用いて、天然物から単離することにより、化学的に合成することにより、又は組換え的に産生させることにより得ることができる。

また、前記miR125bとしては、内在性の成熟型miR125bを模倣するように合成された、miR125b類似物質なども同様に使用することができる。前記miR125b類似物質は、例えば、Ambion社などから入手可能である。

なお、前記miR125bは、一本鎖であってもよいし、二本鎖であってもよい。

10

20

30

40

50

- mi R 1 2 5 b 前駆体 -

また、前記有効成分としては、前記した成熟型の mi R 1 2 5 b に限らず、mi R 1 2 5 b の前駆体を使用することもできる。

前記 mi R 1 2 5 b 前駆体としては、例えば、前記 mi R 1 2 5 b の、pri-miRNA、pre-miRNA などが挙げられ、その具体例としては、例えば、下記配列番号：2～配列番号：5 で表される前駆体などが挙げられる（マウス mir-125b-1；UGCGCUC C C C U C A G U C C C U G A G A C C C U A A C U U G U G A U G U U U A C C G U U U A A A U C C A C G G G U U A G G C U C U U G G G A G C U G（配列番号：2）、マウス mir-125b-2；GCCUA G U C C C U G A G A C C C U A A C U U G U G A G G U A U U U U A G U A A C A U C A C A A G U C A G G U U C U U G G G A C C U A G G C（配列番号：3）、ヒト mir-125b-1；UGCGCUC C U C U C A G U C C C U G A G A C C C U A A C U U G U G A U G U U U A C C G U U U A A A U C C A C G G G U U A G G C U C U U G G G A G C U G C G A G U C G U G C U（配列番号：4）、ヒト mir-125b-2；ACCAGACU U U U C C U A G U C C C U G A G A C C C U A A C U U G U G A G G U A U U U U A G U A A C A U C A C A A G U C A G G C U C U U G G G A C C U A G G C G G A G G G G A（配列番号：5））。前記 mi R 1 2 5 b 前駆体は、例えば、従来公知の手法を用いて、天然物から単離することにより、化学的に合成することにより、又は組換え的に産生させることにより得ることができる。

10

また、前記 mi R 1 2 5 b 前駆体としては、内在性の mi R 1 2 5 b 前駆体を模倣するように合成された、mi R 1 2 5 b 前駆体類似物質なども同様に使用することができる。

20

なお、前記 mi R 1 2 5 b 前駆体は、一本鎖であってもよいし、二本鎖であってもよい。

#### 【0011】

前記有効成分は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

また、前記間葉系細胞の分化抑制剤中の前記有効成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記間葉系細胞の分化抑制剤は、前記有効成分そのものであってもよい。

#### 【0012】

<その他の成分>

30

前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記有効成分を所望の濃度に希釈等するための、水、各種緩衝液などが挙げられる。

また、前記その他の成分としては、間葉系細胞への分化を抑制したい細胞（対象細胞；例えば、間葉系幹細胞）に前記有効成分を導入するための、導入用試薬なども挙げられる。前記導入用試薬としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、Lipofectamin 2000（Invitrogen社）などが挙げられる。

#### 【0013】

<間葉系細胞>

40

前記間葉系細胞の分化抑制剤は、間葉系細胞への分化能を有する細胞の、間葉系細胞への分化を効果的に抑制することができる。

前記間葉系細胞への分化能を有する細胞（前記分化抑制剤を導入する対象となる細胞；本明細書中において「対象細胞」と称することがある）の種類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、間葉系幹細胞などが挙げられる。前記間葉系幹細胞の入手方法としても、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、個体の骨髄等から単離することにより得ることもできるし、或いは、既にクローン化された間葉系幹細胞として各種機関から入手することもできる。このような既にクローン化された間葉系幹細胞としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、マウスの細胞として、マウス ST2 細胞、マウス NR6 細胞など

50

が挙げられる（それぞれ独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター（BRC）から入手可能である）。なお、前記間葉系幹細胞以外の細胞であっても、前記間葉系細胞への分化能を有する細胞であれば、いずれも前記分化抑制剤の対象細胞として好適に使用することができる。

また、前記間葉系細胞（前記分化抑制剤により、それへの分化が抑制される間葉系細胞）の種類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞などが挙げられる。これらの中でも、前記間葉系細胞の分化抑制剤は、骨芽細胞、及び脂肪細胞への分化の抑制に、特に好適である。

【0014】

<分化抑制>

前記間葉系細胞の分化抑制剤は、例えば、前記対象細胞（例えば、間葉系幹細胞）に導入（トランスフェクト）することにより使用することができる。前記対象細胞への前記間葉系細胞の分化抑制剤の導入方法としては、特に制限はなく、例えば、従来公知の核酸導入方法を適宜利用することができる。

なお、前記間葉系細胞の分化抑制剤は、前記有効成分（miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれか）をコードする配列を含む核酸（例えば、組換えプラスミド、組換えウイルス）を、前記対象細胞に導入することにより使用される態様であってもよい。前記態様では、前記対象細胞において、前記有効成分（miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれか）が発現される。

【0015】

<用途>

前記間葉系細胞の分化抑制剤は、miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれかを有効成分として含むので、対象細胞の間葉系細胞への分化を好適に抑制することができる。したがって、前記間葉系細胞の分化抑制剤は、例えば、後述する本発明の第1の医薬（間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患の治療又は予防のための医薬）に好適に利用可能である。

【0016】

（第1の医薬）

本発明の第1の医薬は、間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患の治療又は予防のための医薬であり、前記した本発明の間葉系細胞の分化抑制剤を含有し、更に必要に応じてその他の成分を含有してなる。

【0017】

<間葉系細胞の分化抑制剤>

前記「間葉系細胞の分化抑制剤」としては、前記した本発明の間葉系細胞の分化抑制剤の項目に記載した通りである。

前記第1の医薬中の前記間葉系細胞の分化抑制剤の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、また、前記第1の医薬は、前記間葉系細胞の分化抑制剤そのものであってもよい。

【0018】

<その他の成分>

前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、医薬的に許容され得る担体などが挙げられる。前記担体としても、特に制限はなく、例えば、前記医薬の剤型等に応じて適宜選択することができる。また、前記医薬中の前記その他の成分の含有量としても、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0019】

<剤型>

前記医薬の剤型としては、特に制限はなく、例えば、後述するような所望の投与方法に応じて適宜選択することができ、例えば、経口固形剤（錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等）、経口服液剤（内服液剤、シロップ剤、エリキシル剤等）、注射剤（溶液、

10

20

30

40

50

懸濁液、用事溶解用固形剤等)、軟膏剤、貼付剤、ゲル剤、クリーム剤、外用散剤、スプレー剤、吸入散剤などが挙げられる。

【0020】

前記経口固形剤としては、例えば、前記有効成分に、賦形剤、更には必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味・矯臭剤等の添加剤を加え、常法により製造することができる。

前記賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、微結晶セルロース、珪酸などが挙げられる。前記結合剤としては、例えば、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、エチルセルロース、シェラック、リン酸カルシウム、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。前記崩壊剤としては、例えば、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、乳糖などが挙げられる。前記滑沢剤としては、例えば、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ砂、ポリエチレングリコールなどが挙げられる。前記着色剤としては、例えば、酸化チタン、酸化鉄などが挙げられる。前記矯味・矯臭剤としては、例えば、白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸などが挙げられる。

10

【0021】

前記経口液剤としては、例えば、前記有効成分に、矯味・矯臭剤、緩衝剤、安定化剤等の添加剤を加え、常法により製造することができる。

20

前記矯味・矯臭剤としては、例えば、白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸などが挙げられる。前記緩衝剤としては、例えば、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。前記安定化剤としては、例えば、トラガント、アラビアゴム、ゼラチンなどが挙げられる。

【0022】

前記注射剤としては、例えば、前記有効成分に、pH調節剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤、局所麻酔剤等を添加し、常法により皮下用、筋肉内用、静脈内用等の注射剤を製造することができる。

前記pH調節剤及び前記緩衝剤としては、例えば、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウムなどが挙げられる。前記安定化剤としては、例えば、ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA、チオグリコール酸、チオ乳酸などが挙げられる。前記等張化剤としては、例えば、塩化ナトリウム、ブドウ糖などが挙げられる。前記局所麻酔剤としては、例えば、塩酸プロカイン、塩酸リドカインなどが挙げられる。

30

【0023】

前記軟膏剤としては、例えば、前記有効成分に、公知の基剤、安定剤、湿潤剤、保存剤等を配合し、常法により混合し、製造することができる。

前記基剤としては、例えば、流動パラフィン、白色ワセリン、サラシミツロウ、オクチルドデシルアルコール、パラフィンなどが挙げられる。前記保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピルなどが挙げられる。

40

【0024】

前記貼付剤としては、例えば、公知の支持体に前記軟膏剤としてのクリーム剤、ゲル剤、ペースト剤等を、常法により塗布し、製造することができる。前記支持体としては、例えば、綿、スフ、化学繊維からなる織布、不織布、軟質塩化ビニル、ポリエチレン、ポリウレタン等のフィルム、発泡体シートなどが挙げられる。

【0025】

<投与>

前記第1の医薬は、間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患の治療又は予防に好適である。前記間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患としては、例えば、脂肪細胞の分化過剰に起因する、肥満、糖尿病、高脂血症、高血圧などが挙げられる。

【0026】

50

前記第1の医薬の投与対象となる哺乳動物としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウシ、ブタ、サル、イヌ、ネコなどが挙げられる。

【0027】

前記第1の医薬の投与方法としては、特に制限はなく、前記医薬の剤型等に応じて適宜選択することができ、例えば、経口投与、腹腔内投与、血液中への注射などが挙げられる。

また、前記第1の医薬は、例えば、前記第1の医薬の有効成分(m i R 1 2 5 b及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれか)を、対象細胞(例えば間葉系幹細胞)に直接導入(トランスフェクト)し、その細胞を患者に移植することにより投与することもできる。

10

また、前記第1の医薬は、例えば、前記第1の医薬の有効成分(m i R 1 2 5 b及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれか)をコードする配列を含む核酸(例えば、組換えプラスミド、組換えウイルス)を、対象細胞(例えば間葉系幹細胞)に導入(トランスフェクト)し、その細胞を患者に移植することにより投与することもできる。この場合、前記有効成分は、前記対象細胞において発現する。

前記第1の医薬の有効成分、又は前記第1の医薬の有効成分をコードする配列を含む核酸を対象細胞に導入する方法としては、特に制限はなく、例えば、従来公知の核酸導入方法を適宜利用することができる。また、前記導入後の対象細胞を患者に移植する方法としても、特に制限なく、例えば、従来公知の細胞移植方法を適宜利用することができる。

20

【0028】

前記第1の医薬の投与量としては、特に制限はなく、投与対象である患者の年齢、体重、所望の効果の程度等に応じて適宜選択することができる。

【0029】

前記第1の医薬の投与回数としては、特に制限はなく、投与対象である患者の年齢、体重、所望の効果の程度等に応じて適宜選択することができる。

【0030】

前記第1の医薬の投与時期としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患に対して、予防的に投与されてもよいし、治療的に投与されてもよい。

30

【0031】

(間葉系細胞の分化促進剤)

本発明の間葉系細胞の分化促進剤は、m i R 1 2 5 bの機能を低下させる作用を有する物質を有効成分として含有し、更に必要に応じてその他の成分を含有してなる。

【0032】

< m i R 1 2 5 bの機能を低下させる作用を有する物質 >

前記m i R 1 2 5 bの機能を低下させる作用を有する物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、m i R 1 2 5及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれかの相補鎖などが挙げられる。前記相補鎖としては、必ずしも前記m i R 1 2 5 b及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれかに対する完全な相補鎖である必要はなく、前記m i R 1 2 5の機能を低下させる作用を有する限り、前記m i R 1 2 5 b及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれかに対する不完全な相補鎖であってもよい。また、前記相補鎖としては、DNAであってもよいし、RNAであってもよい。

40

また、前記相補鎖としては、前記m i R 1 2 5 b及びm i R 1 2 5 b前駆体の少なくともいずれかと強固に二本鎖を形成し、より効果的に前記m i R 1 2 5 bの機能を阻害する(低下させる)ことができる点で、例えば、LNA(Locked Nucleic Acid)等の修飾を有したものであることが好ましい。前記LNA(Locked Nucleic Acid)等の修飾を有する相補鎖としては、例えば、m i R C U R Y K n o c k d o w n P r o b e s (E x i q o n社)などを利用することができる(例えば、Biomedecine & Pharmacotherapy, Volume 60

50



, Issue 9, November 2006, Pages 633 - 638 参照)。

また、前記相補鎖としては、細胞内で分解されることを阻止してより安定に存在することができ、そのため、より効果的に前記miR125bの機能を阻害する(低下させる)ことができる点で、例えば、2'-O-methyl等の修飾を有したものであることも好ましい。(例えば、Nucleic Acids Research, 2003, Vol. 31, No. 11 2705 - 2716 参照)。

【0033】

前記有効成分は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

また、前記間葉系細胞の分化促進剤中の前記有効成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記間葉系細胞の分化促進剤は、前記有効成分そのものであってもよい。

10

【0034】

<その他の成分>

前記「その他の成分」としては、前記した本発明の間葉系細胞の分化抑制剤と同様である。

<間葉系細胞>

前記「間葉系細胞」としては、前記した本発明の間葉系細胞の分化抑制剤と同様である。

【0035】

<分化促進>

20

前記間葉系細胞の分化促進剤は、例えば、前記対象細胞(例えば、間葉系幹細胞)に導入(トランスフェクト)することにより使用することができる。前記対象細胞への前記間葉系細胞の分化促進剤の導入方法としては、特に制限はなく、例えば、従来公知の核酸導入方法を適宜利用することができる。

なお、前記間葉系細胞の分化促進剤は、前記有効成分(例えば、miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれかに対する相補鎖)をコードする配列を含む核酸(例えば、組換えプラスミド、組換えウイルス)を、前記対象細胞に導入することにより使用される態様であってもよい。前記態様では、前記対象細胞において、前記有効成分(例えば、miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれかに対する相補鎖)が発現される。

30

【0036】

<用途>

前記間葉系細胞の分化促進剤は、miR125bの機能を低下させる作用を有する物質を有効成分として含むので、対象細胞の間葉系細胞への分化を好適に促進させることができる。したがって、前記間葉系細胞の分化促進剤は、例えば、後述する本発明の第2の医薬(間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患の治療又は予防のための医薬)に好適に利用可能である。

【0037】

(第2の医薬)

本発明の第2の医薬は、間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患の治療又は予防のための医薬であり、前記した本発明の間葉系細胞の分化促進剤を含有し、更に必要に応じてその他の成分を含有してなる。

40

【0038】

<間葉系細胞の分化促進剤>

前記「間葉系細胞の分化促進剤」としては、前記した本発明の間葉系細胞の分化促進剤の項目に記載した通りである。

前記第2の医薬中の前記間葉系細胞の分化促進剤の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、また、前記第2の医薬は、前記間葉系細胞の分化促進剤そのものであってもよい。

【0039】

50

## &lt; その他の成分 &gt;

前記「その他の成分」としては、前記した本発明の第1の医薬と同様である。

## &lt; 剤型 &gt;

前記「剤型」としては、前記した本発明の第1の医薬と同様である。

## 【0040】

## &lt; 投与 &gt;

前記第2の医薬は、間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患の治療又は予防に好適である。前記間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患としては、例えば、骨芽細胞の分化抑制に起因する、骨粗鬆症、骨形成不全、発達期における成長阻害などが挙げられる。

## 【0041】

前記第2の医薬の投与対象となる哺乳動物としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウシ、ブタ、サル、イヌ、ネコなどが挙げられる。

## 【0042】

前記第2の医薬の投与方法としては、特に制限はなく、前記医薬の剤型等に応じて適宜選択することができ、例えば、経口投与、腹腔内投与、血液中への注射などが挙げられる。

また、前記第2の医薬は、例えば、前記第2の医薬の有効成分（例えば、miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれかに対する相補鎖）を、対象細胞（例えば間葉系幹細胞）に直接導入（トランスフェクト）し、その細胞を患者に移植することにより投与することもできる。

また、前記第2の医薬は、例えば、前記第2の医薬の有効成分（例えば、miR125b及びmiR125b前駆体の少なくともいずれかに対する相補鎖）をコードする配列を含む核酸（例えば、組換えプラスミド、組換えウイルス）を、対象細胞（例えば間葉系幹細胞）に導入（トランスフェクト）し、その細胞を患者に移植することにより投与することもできる。この場合、前記有効成分は、前記対象細胞において発現する。

前記第2の医薬の有効成分、又は前記第2の医薬の有効成分をコードする配列を含む核酸を対象細胞に導入する方法としては、特に制限はなく、例えば、従来公知の核酸導入方法を適宜利用することができる。また、前記導入後の対象細胞を患者に移植する方法としても、特に制限なく、例えば、従来公知の細胞移植方法を適宜利用することができる。

## 【0043】

前記第2の医薬の投与量としては、特に制限はなく、投与対象である患者の年齢、体重、所望の効果の程度等に応じて適宜選択することができる。

## 【0044】

前記第2の医薬の投与回数としては、特に制限はなく、投与対象である患者の年齢、体重、所望の効果の程度等に応じて適宜選択することができる。

## 【0045】

前記第2の医薬の投与時期としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患に対して、予防的に投与されてもよいし、治療的に投与されてもよい。

## 【0046】

## (第1のスクリーニング方法)

本発明の第1のスクリーニング方法は、miR125bの機能の向上を指標として、間葉系細胞の分化を抑制する作用を有する物質をスクリーニングする方法である。

前記第1のスクリーニング方法としては、例えば、(a)被験物質がmiR125bの機能を向上させるか否かを評価する工程、及び(b)前記工程(a)で前記miR125bの機能を向上させると評価された前記被験物質を選択する工程、を含む方法などが挙げられる。

## 【0047】

- (a) 評価工程 -

10

20

30

40

50

前記評価工程における、被験物質がmiR125bの機能を向上させるか否かを評価する評価方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、被験物質の存在下及び非存在下でのmiR125bの発現量を調べる方法などが挙げられる。なお、前記被験物質としては、特に制限はなく、各種候補物質の中から、目的に応じて適宜選択することができる。

被験物質の存在下では、被験物質の非存在下と比べて、miR125bの発現量が増加するという結果が得られた場合、前記被験物質は、前記miR125bの機能を向上させると評価することができる。

【0048】

- (b) 選択工程 -

前記選択工程では、前記工程(a)でmiR125bの機能を向上させると評価された前記被験物質を選択する。

【0049】

前記第1のスクリーニング方法でスクリーニングされた物質は、例えば、前記した本発明の第1の医薬(間葉系細胞の分化過剰に起因する疾患の治療又は予防のための医薬)に好適に利用可能である。

【0050】

(第2のスクリーニング方法)

本発明の第2のスクリーニング方法は、miR125bの機能の低下を指標として、間葉系細胞の分化を促進する作用を有する物質をスクリーニングする方法である。

前記第2のスクリーニング方法としては、例えば、(a')被験物質が、miR125bの機能を低下させるか否かを評価する工程、及び(b')前記工程(a')で前記miR125bの機能を低下させると評価された前記被験物質を選択する工程、を含む方法などが挙げられる。

【0051】

- (a') 評価工程 -

前記評価工程における、被験物質がmiR125bの機能を低下させるか否かを評価する評価方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、被験物質の存在下及び非存在下でのmiR125bの発現量を調べる方法などが挙げられる。なお、前記被験物質としては、特に制限はなく、各種候補物質の中から、目的に応じて適宜選択することができる。

被験物質の存在下では、被験物質の非存在下と比べて、miR125bの発現量が低下するという結果が得られた場合、前記被験物質は、前記miR125bの機能を低下させると評価することができる。

【0052】

- (b') 選択工程 -

前記選択工程では、前記工程(a')でmiR125bの機能を低下させると評価された前記被験物質を選択する。

【0053】

前記第2のスクリーニング方法でスクリーニングされた物質は、例えば、前記した本発明の第2の医薬(間葉系細胞の分化抑制に起因する疾患の治療又は予防のための医薬)に好適に利用可能である。

【0054】

[効果]

本発明の間葉系細胞の分化抑制剤/分化促進剤、及び、本発明の第1の医薬/第2の医薬によれば、対象細胞(例えば間葉系幹細胞)からの間葉系細胞への分化を制御(抑制/促進)することが可能となり、そのため、間葉系細胞の分化異常に起因する疾患(例えば、脂肪細胞分化過剰に起因する肥満、骨芽細胞分化抑制に起因する骨粗鬆症等)に対して効果的な治療又は予防方法を提供することができる。

また、本発明の第1のスクリーニング方法/第2のスクリーニング方法によれば、間葉

10

20

30

40

50

系細胞の分化を制御（抑制／促進）する作用を有する物質を探索することができ、そのため、間葉系細胞の分化異常に起因する疾患に対する医薬の有効成分となり得る物質を提供することができる。

【実施例】

【0055】

以下に本発明の実施例を説明するが、本発明は、これらの実施例に何ら限定されるものではない。

【0056】

（実施例1：骨芽細胞分化に關与するmiRNAの探索）

骨芽細胞分化に關与するmiRNAを、以下のような方法で探索した。

10

【0057】

<方法>

マウス骨髄由来の培養細胞であるST2細胞について、骨芽細胞分化を誘導した細胞サンプルと未分化の細胞サンプルとで、発現量に違いのあるmiRNAをmiRNAマイクロアレイ解析により探索した。各実験方法の詳細は以下の通り。

【0058】

[ST2細胞の培養]

ST2細胞は、独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター（BRC）から入手し（細胞番号：RCB0224）、BRCから提供されているプロトコルに従って培養した（10%FBS添加RPMI1640培地を用いて培養した）。

20

【0059】

[骨芽細胞分化誘導]

前記ST2細胞をセミコンフルエントな状態まで培養した後、前記ST2細胞の培養に用いた培地を、10%FBS、及び100ng/ml骨形成タンパク質4（BMP4；R&Dシステムズ社）を添加したRPMI1640培地に置き換えることにより、骨芽細胞分化を誘導した。培地は3日ごとに交換した。

【0060】

[miRNAマイクロアレイ解析]

各細胞サンプル（骨芽細胞分化を誘導した細胞サンプル（骨芽細胞分化誘導開始後6日目の細胞サンプル）、及び、未分化ST2細胞サンプル）から、mirVana<sup>TM</sup> miRNA Isolation Kit（Ambion社）を用いてmiRNAを精製し、FlashPAGE miRNA fractionator（Ambion社）を用いて更に精製した。次いで、マイクロアレイ解析のため、mirVana<sup>TM</sup> miRNA Labeling Kit（Ambion社）を用いてmiRNAを標識化した。標識化miRNAサンプルを、mirVana<sup>TM</sup> miRNA Bioarray（Ambion社）上でハイブリダイズさせ、洗浄した。前記各手法は、Ambion社の各製品プロトコルに従って行った。Agilent microarray scanner（G2565BA, Agilent社）を用いてマイクロアレイのシグナルを測定し、Feature Extraction software（Agilent社）を用いてシグナルを定量化した。

30

40

【0061】

<結果>

マイクロアレイ解析結果を図1に示す（なお、図1中、縦軸は骨芽細胞分化を誘導した細胞サンプルにおける各miRNAの発現量を、横軸は未分化ST2細胞サンプルにおける各miRNAの発現量を示す）。図1の結果から、骨芽細胞分化を誘導した細胞サンプルと未分化ST2細胞サンプルとで、発現量に違いのあるmiRNAが複数確認された。

本発明者らは、未分化ST2細胞サンプルよりも、骨芽細胞分化を誘導した細胞サンプルで発現量が低くなるmiRNA数種に着目し、データベース（PicTar（[http://pictar.bio.nyu.edu/cgi-bin/PicTar\\_vertibrate.cgi](http://pictar.bio.nyu.edu/cgi-bin/PicTar_vertibrate.cgi)））を用いて、それらのmiRNAの標的となり得る遺伝子を調

50

べた。その結果、骨芽細胞分化に重要な働きを有することが報告されている、Osterix、BMPR2、Schnurri2等の遺伝子の標的となり得る、miR125b (miRNA-125b)を見出すことができた(図2に、miR125bとOsterixとの結合の予測モデルを示す)。

この結果から、miR125bは、Osterix、BMPR2、Schnurri2等の翻訳を阻害することによって、骨芽細胞分化の抑制に機能している可能性が示された。また、miR125bの標的候補の1つであるSchnurri2は、脂肪細胞分化においても重要な働きを有することが報告されていることから、miR125bは、Schnurri2の翻訳を阻害することによって、脂肪細胞分化の抑制に機能している可能性も示された。

#### 【0062】

(実施例2: miR125bの機能亢進による骨芽細胞分化及び脂肪細胞分化への影響)  
miR125bの機能亢進が骨芽細胞分化及び脂肪細胞分化に及ぼす影響を、以下のよう  
な方法で調べた。

#### 【0063】

<方法>

ST2細胞にmiR125bを導入してmiR125bの機能を亢進させ、骨芽細胞分化及び脂肪細胞分化に与える影響を調べた。なお、骨芽細胞への分化はアルカリホスファターゼ染色及びオステオカルシン発現量により確認した。また、脂肪細胞への分化はニールレッド染色により確認した。各実験方法の詳細は以下の通り。

#### 【0064】

[ST2細胞の培養]

ST2細胞の培養は、前記実施例1と同様にして行った。

#### 【0065】

[miR125bの導入(トランスフェクション)]

ST2細胞におけるmiR125bの機能亢進のため、miR125bのPre-miR miRNA Precursor Molecule (Ambion社)をST2細胞に導入した。対照実験のため、ネガティブコントロールsiRNAをQIAGEN社から入手し、ST2細胞に導入した。Lipofectamine 2000 (Invitrogen社)と20nM Pre-miR miRNA Precursor Molecule (又はネガティブコントロールsiRNA)との複合体を、製品説明書に従って調製し、ST2細胞培養プレートに直接添加し、混合することによりトランスフェクションを行った。トランスフェクションから4~6時間後、培地を新鮮培地(骨芽細胞分化誘導の場合は10% FBS及び100ng/ml BMP4を含む培地、脂肪細胞分化誘導の場合は後述する脂肪細胞分化用培地)に置き換え、骨芽細胞分化誘導、又は脂肪細胞分化誘導を行った。

#### 【0066】

[骨芽細胞分化誘導]

骨芽細胞分化誘導は、前記実施例1と同様にして行った。

#### 【0067】

[アルカリホスファターゼ染色]

骨芽細胞分化誘導開始後6日目に、各細胞を10%ホルマリンで20分間固定し、更にエタノール及びアセトンの等量混合物で1分間固定して、PBSで洗浄した。1mgのナフトール AS-MX (Sigma社)を1滴のN,N-ジメチルホルムアミド(Wako社)に溶解させ、10mlの2mM MgCl<sub>2</sub>含0.1M Tris-HClバッファー(pH 8.5)に懸濁することによりアルカリホスファターゼ(ALP)染色液を調製した。6mgのFast blue BB salt (Sigma社)を加えたALP染色液を濾過した。固定後の各細胞を、前記ALP染色液中で37℃、20分間インキュベートした。

#### 【0068】

10

20

30

40

50

[ オステオカルシン発現量の測定 ]

RNeasy column (QIAGEN社)を用い、製品説明書に従って、骨芽細胞分化誘導後の各細胞からトータルRNAを単離した。NanoDrop spectrometer (NanoDrop Technology社)を用いて、トータルRNAの収量及び質を測定した。オステオカルシンの遺伝子発現量を定量RT-PCRにより測定した。オリゴdTプライマーを用いて、製品プロトコルに従い、Transcriptor (Roche社)によりトータルRNAを逆転写した。得られた逆転写産物をテンプレートとして使用し、Mx3000P (Stratagene社)及びPower SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems社)を用いて定量RT-PCRを行った。プライマーとしては、TGGAGAAACCTGCCAAGTATG (GAPDH-forward, 配列番号: 6)、GGAGACAACCTGGTCCTCAG (GAPDH-reverse, 配列番号: 7)、CTCTGTCTCTCTGACCTCACAG (Osteocalcin-forward, 配列番号: 8)、及びGGAGCTGCTGTGACATCCATAC (Osteocalcin-reverse, 配列番号: 9)を用いた。

10

【0069】

[ 脂肪細胞分化誘導 ]

前記ST2細胞をセミコンフルエントな状態まで培養した後、前記ST2細胞の培養に用いた培地を、10% FBS、0.5 mM 3-イソブチル-1-メチルキサンチン(MIX)、0.25 μM デキサメタゾン(DEX)、及びインスリン-トランスフェリン-セレン-X サプリメント(5 μg/mlのインスリン(Invitrogen社)及び1 μMのロシグリタゾンを含む)を添加したRPMI 1640培地に置き換えることにより、脂肪細胞分化を誘導した。48時間後、前記脂肪細胞分化用培地を10% FBS添加RPMI 1640培地に置き換えた。

20

【0070】

[ ナイルレッド染色 ]

脂肪細胞分化誘導開始後4日目に、脂肪細胞に蓄積された脂質をナイルレッドで染色し、蛍光強度を測定することで定量化した。各細胞を、リン酸緩衝食塩水(PBS)で3回洗浄し、10%ホルマリン含PBSを用いて室温で1時間、固定した。固定後、ナイルレッド(PBS中1 μg/ml)を用いて室温で10分間反応させることにより、脂質の蓄積を検出した。Wallac 1420 Multilabel counter (PerkinElmer Life and Analytical Sciences社)を用いて蛍光強度(励起485 nm; 発光535 nm)を測定した。

30

【0071】

< 結果 >

結果を図3A及び図3B(骨芽細胞分化)、並びに図4A及び図4B(脂肪細胞分化)に示す。図3A及び図3Bの結果から、miR125bの導入により、ST2細胞における骨芽細胞分化が顕著に抑制されたことがわかる(ALP染色性の低下、オステオカルシン発現量の低下)。また、図4A及び図4Bの結果から、miR125bの導入により、ST2細胞における脂肪細胞分化が顕著に抑制されたことがわかる(ナイルレッド染色性の低下)。なお、図3A~図4Bにおいて、「NC」はネガティブコントロールを示す。

40

これらの結果から、miR125bは、骨芽細胞分化及び脂肪細胞分化を抑制する機能を有していることが示された。

【0072】

本実施例の結果から、miR125bが骨芽細胞及び脂肪細胞の分化に抑制的に機能していることが示され、miR125bの発現を調整することにより、骨芽細胞及び脂肪細胞への分化の程度をコントロールできる可能性が示された。このmiR125bの新たな機能の発見は、様々な医薬用途に応用可能であると考えられる。例えば、miR125bを用いることにより、脂肪細胞分化を抑制し、肥満の治療又は予防に応用することなどが考えられる。また、miR125bの機能を抑制する物質(例えばmiR125bの相補

50

鎖)を用いることにより、骨芽細胞分化を促進させ、骨粗鬆症の治療又は予防に応用することなどが考えられる。

【産業上の利用可能性】

【0073】

本発明の間葉系細胞の分化抑制剤/分化促進剤、本発明の第1の医薬/第2の医薬、及び、本発明の第1のスクリーニング方法/第2のスクリーニング方法は、間葉系細胞の分化異常に起因する疾患(例えば、脂肪細胞分化過剰に起因する肥満、骨芽細胞分化抑制に起因する骨粗鬆症)に対する治療又は予防方法の開発に、好適に利用可能である。

【図面の簡単な説明】

【0074】

【図1】図1は、実施例1におけるmiRNAマイクロアレイ解析の結果を示す図である。

【図2】図2は、miR125bとその標的遺伝子候補であるOsterixとの結合の予測モデルを示す図である。

【図3A】図3Aは、実施例2において、miR125bの導入によりアルカリホスファターゼ(ALP)染色性が低下したことを示す図である。

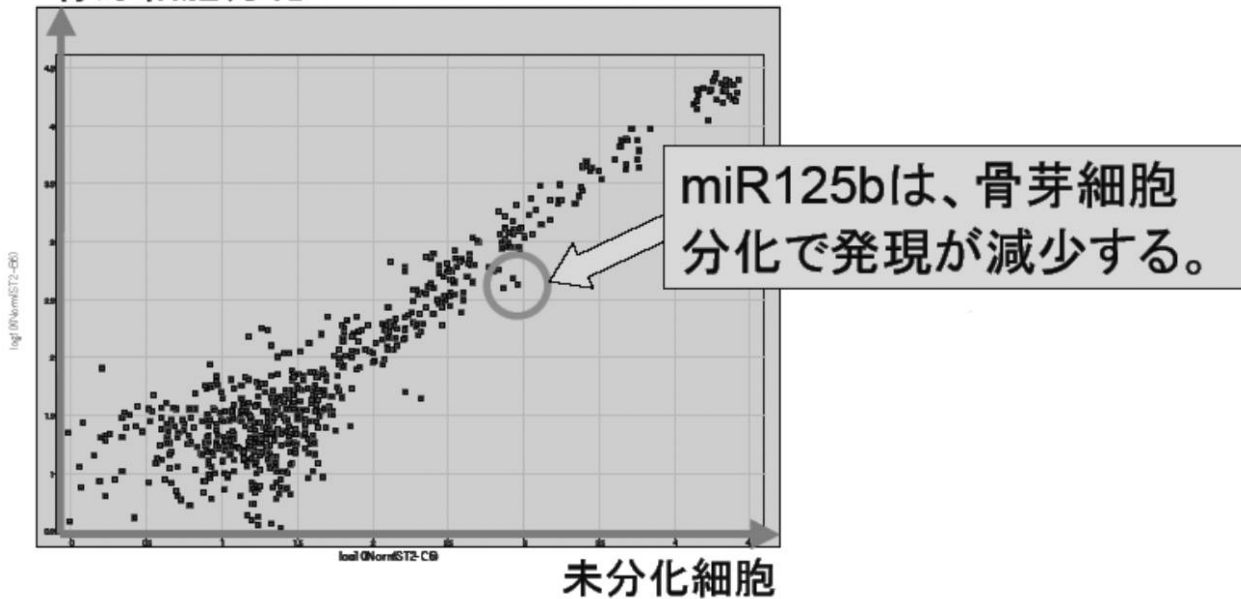
【図3B】図3Bは、実施例2において、miR125bの導入によりオステオカルシン(Osteocalcin)発現量が低下したことを示す図である(縦軸は、ネガティブコントロール(NC)処理区におけるオステオカルシン発現量を1としたときの相対的オステオカルシン発現量を示す)。

【図4A】図4Aは、実施例2において、miR125bの導入によりニールレッド(Nile Red)染色性が低下したことを示す図である。

【図4B】図4Bは、実施例2において、miR125bの導入によりニールレッド(Nile Red)染色性が低下したことを示す図である(縦軸は、ニールレッドの蛍光強度値を示す)。

【図1】

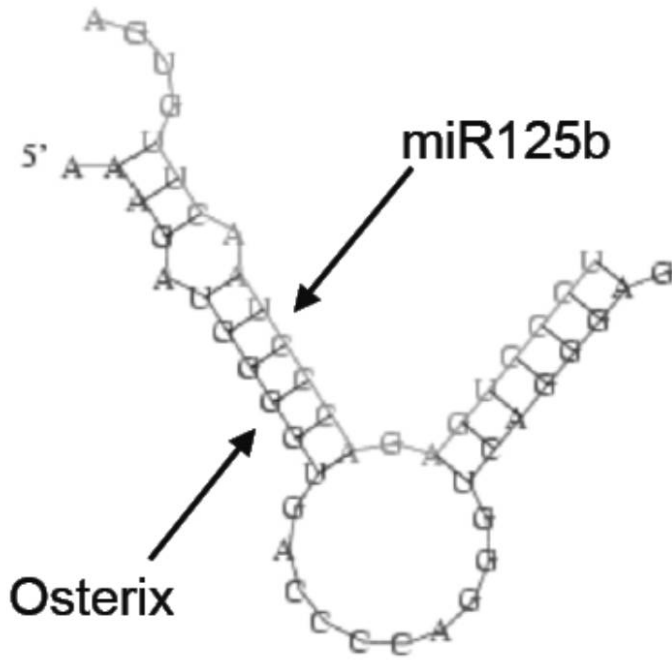
### 骨芽細胞分化



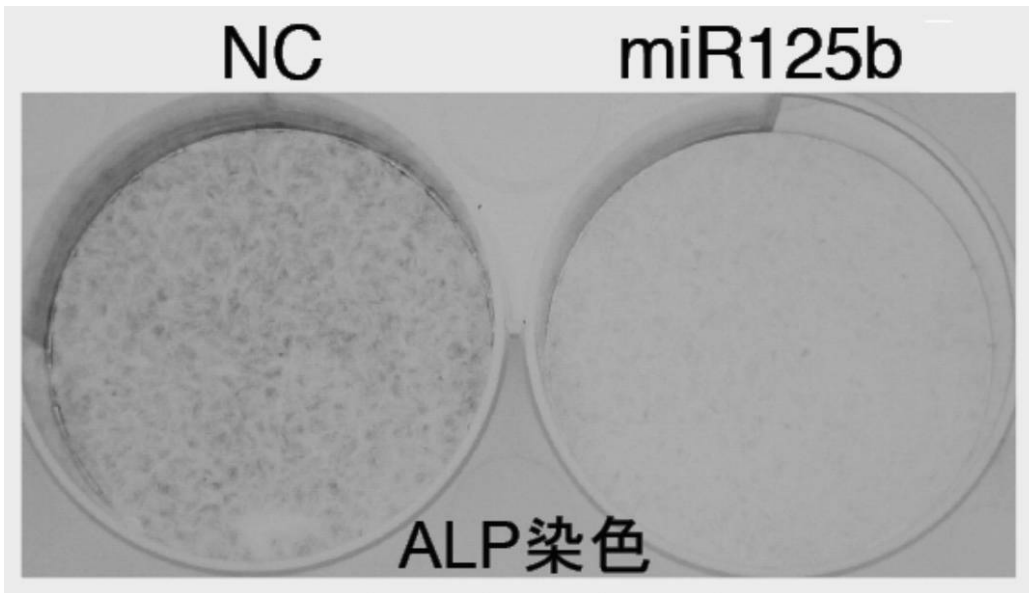
10

20

【 図 2 】

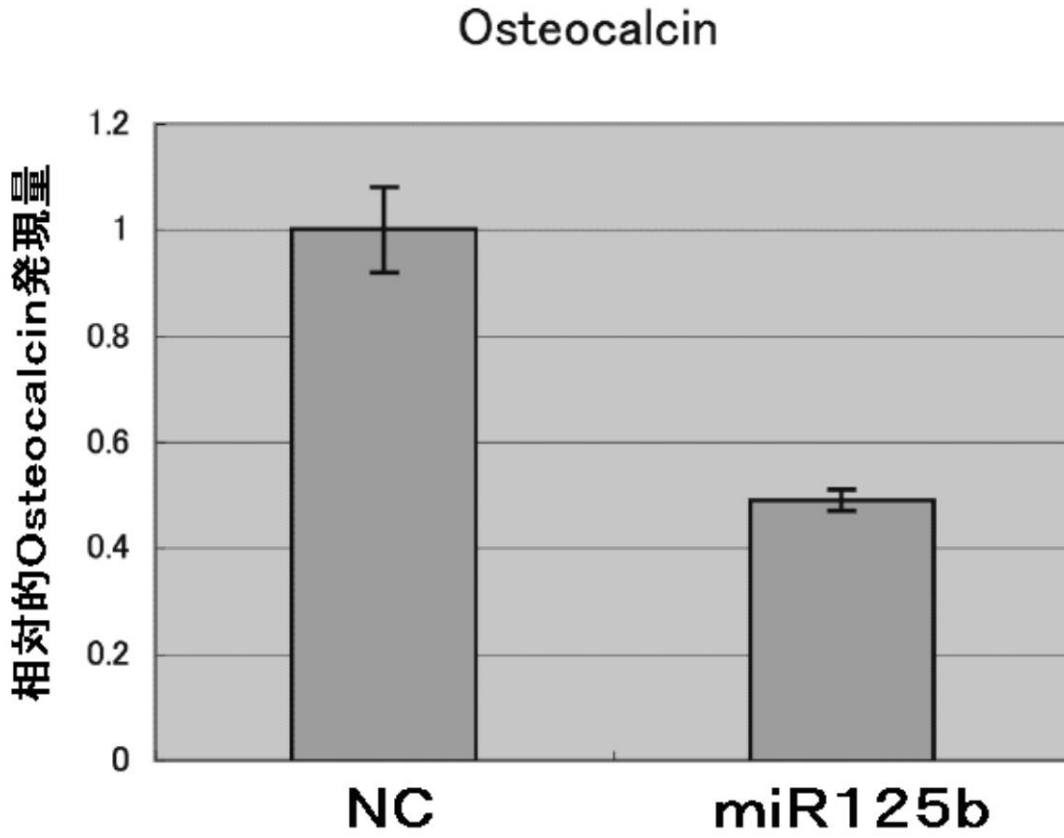


【 図 3 A 】

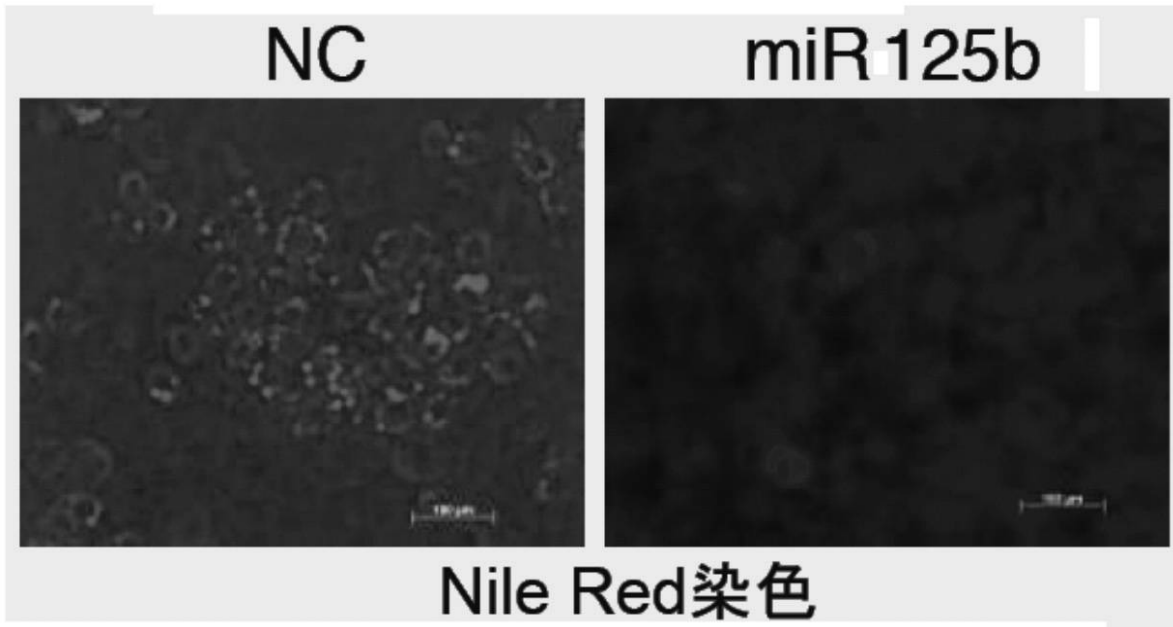




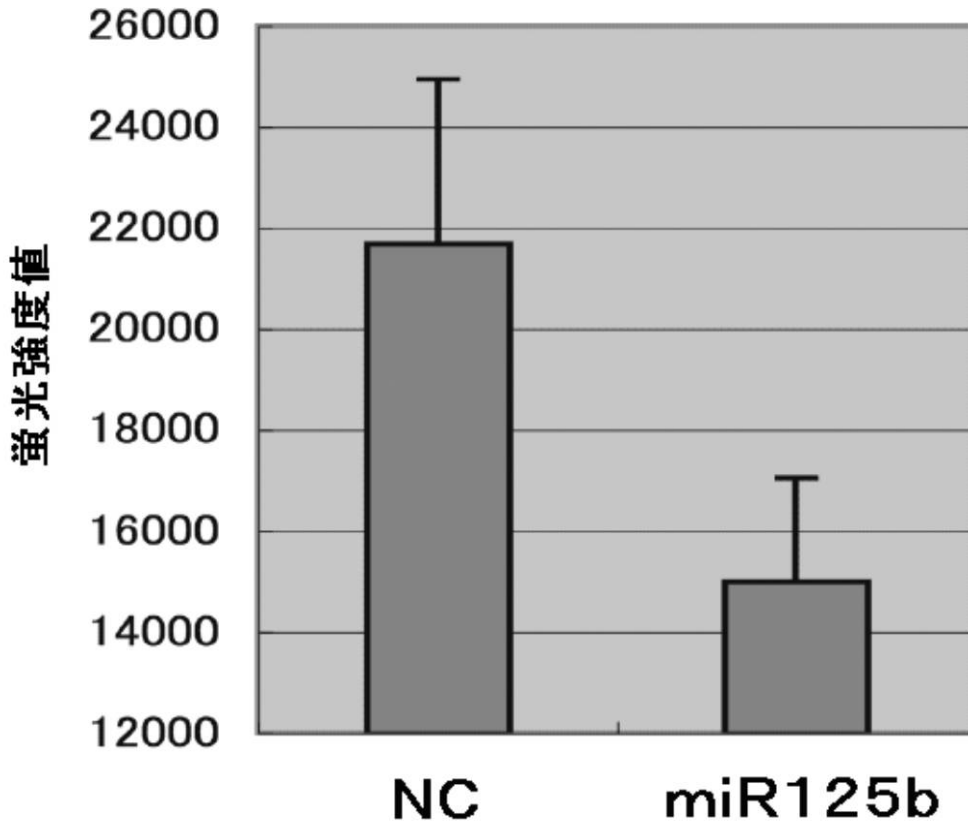
【图 3 B】



【图 4 A】



【 図 4 B 】



【 配列表 】

200818445000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	3/04 (2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	9/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/12
A 6 1 P	19/08 (2006.01)	A 6 1 P	19/08
A 6 1 P	19/10 (2006.01)	A 6 1 P	19/10
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 0 5

(72)発明者 岡崎 康司

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷3-8 学校法人埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター内

(72)発明者 八木 研

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷3-8 学校法人埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター内

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 CA11 DA02 EA10 GA11 HA14  
 4B063 QA01 QA05 QA18 QQ08 QQ13 QQ52 QQ79 QR08 QR32 QR35  
 QR56 QR62 QR69 QR77 QR80 QS25 QS34 QX02  
 4B065 AA90X AA90Y AB01 BA01 CA44 CA46  
 4C084 AA02 AA17 NA14 ZA422 ZA702 ZA962 ZA972 ZB212 ZC332 ZC352  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA42 ZA70 ZA96 ZA97  
 ZC33 ZC35