

令和元年5月28日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04841

研究課題名(和文) FAPの次世代型複合的免疫療法によるアミロイド掃討作戦

研究課題名(英文) Next generation type composite antibody therapy for TTR amyloidosis

研究代表者

安東 由喜雄 (Ando, Yukio)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：20253742

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：FAPの治療では肝移植やTTRの四量体の安定化剤により進行を遅延させる治療法が臨床応用されたが効果が乏しく適応とならない患者も多い。近年開発されたTTR遺伝子のgene silencing therapyもその効果は未知数である。本研究ではアミロイド沈着を抑制する根治療法として「次世代型免疫療法の開発」に焦点を絞って研究が行われた。解析の結果、TTR115-124、TTR89-97抗体がTTRアミロイド形成を有効に抑制した。更に抗体療法にiPS細胞由来マクロファージを加えた「複合的な抗アミロイド免疫療法」を確立しin vitroでアミロイド除去能を検証したところ、その効果が増強した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な問題点のあるFAP治療に対して、これまでの研究実績を元に総合的な免疫療法を根治療法として実用化しようとしてPhase studyまでこぎ着けた画期的な研究である。複数の治療標的や様々な治療手法を組み合わせ検証することで、高い治療効果を持つ免疫療法が確立されつつある。FAPのみならず種々のアミロイドーシスやタンパク蓄積症においては、実臨床で遭遇する患者はすでに蓄積が起り症状も進行した状態である。本研究のごとくすでに蓄積したアミロイドも除去しようとする研究は、今後のアミロイドーシスをはじめとするプロテインオパチーに分類される神経疾患の治療研究に多大なインパクトを与えると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Although liver transplantation and low molecular weight compounds of tetrameric form stabilizer slow down the progression of familial amyloid polyneuropathy (FAP), significant numbers of the patients are non-responders. In addition, effect of gene silencing therapy, using antisense or siRNA TTR is still unclear. We newly considered the novel therapeutic strategy using next generation type composite antibody therapy for TTR amyloidosis. On analyses, anti-TTR115-124, and TTR89-97 was effectively broke TTR amyloid fibrils. To increase the effect, we examined combined administration of those antibodies and iPS derived macrophages. In vitro study revealed that amyloid braking ability was significantly enhanced. Now this project is in Phase I study in the collaboration of American venture company, Prothena.

研究分野：神経内科を主体に、アミロイドシス学、検査医学を行っている。

キーワード：神経内科 家族性アミロイドニューロパチー トランスサイレチン 抗体治療 iPS細胞 神経分子病態学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)はトランスサイレチン(TTR)の遺伝的変異が原因で起こる難治性疾患である。治療法として原因蛋白質の産生臓器を置換する肝移植に加え、TTR 四量体の安定化剤であるタファミジスが臨床応用されてきたが、**双方ともアミロイド形成過程の上流のみを制御する治療戦略であるため病初期にしか効果がない**。依然として**多くの進行した FAP 患者 (特に進行した患者) に対する効果的な治療法はない**。本疾患と同様にアミロイド形成が病態の中心と考えられているアルツハイマー病に対しても、抗体療法やワクチン療法の効果が期待されており、これまで様々な治療薬が開発され臨床試験が行われてきたが、臨床応用に至ったものはまだない。

アルツハイマー病の抗体治療・ワクチン療法の実現化が困難な原因として以下の点が挙げられる。1. 重度のアミロイド沈着に伴い病態が進行した状況では既に障害が重度であり、**アミロイドを除去しても可塑性が低い高齢者の中枢神経では機能回復が困難**である、2. アミロイド形成過程で生じると考えられる臓器障害の主たる原因が不明瞭で、**毒性の本体とされるオリゴマーの実態も不明な点が多いため治療標的が定まらない**。3. 副作用がある。

2. 研究の目的

FAP は末梢神経や、心、腎、消化管などの内臓器が主たる病態の部位であり、**病原分子の除去が行われることで、その後の臓器機能回復も十分期待できる**。また本研究では、アルツハイマー病に対する抗体・ワクチン療法の結果をもとに、TTR の変性からアミロイド形成に至る過程で生じる**様々な形態の TTR 分子を治療標的とする(下図)**。さらに、免疫療法の手法として、**1. ワクチン療法、2. 抗体治療、3. iPS 細胞由来マクロファージ(iPS-MΦ)によるアミロイド除去**を検討し、最終的にはこれらの手法を組み合わせた「**複合的な抗アミロイド免疫療法**」によるアミロイドを一掃する戦略の確立を目指す。

3. 研究の方法

TTR の変性からアミロイド形成に至る過程で生じる様々な形態の TTR 分子を治療標的とするため、1. 立体構造から理論的に設定する標的ペプチド領域、2. リコンビナント蛋白をインキュベーションして人工的に作成した各種の標的 TTR、3. FAP 患者組織から抽出・分離・精製した TTR 分子を標的抗原の候補として使用する。免疫療法の手法としては、1. ワクチン療法、2. 抗体治療、3. iPS 細胞由来マクロファージ(iPS-MΦ)をそれぞれ検討し、最終的にはこれらの手法を組み合わせた次世代型の「**複合的なアミロイド免疫療法**」の効果を検証する。

4. 研究成果

様々な TTR ペプチド抗体の解析の結果、TTR115-124、TTR89-97 抗体が TTR アミロイド形成を有効に押さえることが判明した。治療効果の向上を目指して、TTR がアミロイド形成する過程の各段階の分子を標的とし、抗体療法に iPS 細胞由来マクロファージによる細胞療法を加えた「**複合的な抗アミロイド免疫療法**」を確立し in vitro でアミロイド消去能を検証したところ、その効果が増強した。本プロジェクトは、アメリカのベンチャー企業、Prothena 社との共同研究のもと Phase I study に入っている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 107 件)

1. Tasaki M, Ueda M, Hoshii Y, Mizukami M, Matsumoto S, Nakamura M, Yamashita T, Ueda A, Misumi Y, Masuda T, Inoue Y, Torikai T, Nomura T, Tsuda Y, Kanenawa K, Isoguchi A, Okada M, Matsui H, Obayashi K, Ando Y. A novel age-related venous amyloidosis derived from EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1. J Pathol, 査読有, 427, 444-455, 2019. doi: 10.1002/path.5203.
2. Masuda T, Ueda M, Kitajima M, Morita K, Misumi Y, Yamashita T, Obayashi K, Yamashita Y, Ando Y. Teaching NeuroImages: Morphology of lumbosacral dorsal root ganglia and plexus in hereditary transthyretin amyloidosis. Neurology, 査読有, 91, e1834-e1835, 2018. doi: 10.1212/WNL.0000000000006474.

3. Sekijima Y, Yazaki M, Ueda M, Koike H, Yamada M, Ando Y. First nationwide survey on systemic wild-type ATTR amyloidosis in Japan. *Amyloid*, 査読有, 25, 8-10, 2018. doi: 10.1080/13506129.2017.1409706.
4. Yamashita T, Ueda M, Misumi Y, Masuda T, Nomura T, Tasaki M, Takamatsu K, Sasada K, Obayashi K, Matsui H, Ando Y. Genetic and clinical characteristics of hereditary transthyretin amyloidosis in endemic and non-endemic areas: experience from a single-referral center in Japan. *J Neurol*, 査読有, 265, 134-140, 2018. doi: 10.1007/s00415-017-8640-7.
5. Inoue Y, Ueda M, Tasaki M, Takeshima A, Nagatoshi A, Masuda T, Misumi Y, Kosaka T, Nomura T, Mizukami M, Matsumoto S, Yamashita T, Takahashi H, Kakita A, Ando Y. Sushi repeat-containing protein 1: a novel disease-associated molecule in cerebral amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol*, 査読有, 134, 605-617, 2017. doi: 10.1007/s00401-017-1720-z.
6. Masuda T, Ueda M, Suenaga G, Misumi Y, Tasaki M, Izaki A, Yanagisawa Y, Inoue Y, Motokawa H, Matsumoto S, Mizukami M, Arimura A, Deguchi T, Nishio Y, Yamashita T, Inomata Y, Obayashi K, Ando Y. Early skin denervation in hereditary and iatrogenic transthyretin amyloid neuropathy. *Neurology*, 査読有, 88, 2192-2197, 2017. doi: 10.1212/WNL.0000000000004016.
7. Misumi Y, Ueda M, Yamashita T, Masuda T, Kinoshita Y, Tasaki M, Nagase T, Ando Y. Novel screening for transthyretin amyloidosis by using fat ultrasonography. *Ann Neurol*, 査読有, 81, 604-608, 2017. doi: 10.1002/ana.24914.
8. Hosoi A, Su Y, Torikai M, Jono H, Ishikawa D, Soejima K, Higuchi H, Guo J, Ueda M, Suenaga G, Motokawa H, Ikeda T, Senju S, Nakashima T, Ando Y. Novel antibody for the treatment of transthyretin amyloidosis. *J Biol Chem*, 査読有, 25, 25096-25105, 2016. doi: 10.1074/jbc.M116.738138.
9. Misumi Y, Narita Y, Oshima T, Ueda M, Yamashita T, Tasaki M, Obayashi K, Isono K, Inomata Y, Ando Y. Recipient aging accelerates acquired transthyretin amyloidosis after domino liver transplantation. *Liver Transpl*, 査読有, 22, 656-664, 2016. doi: 10.1002/lt.24371.
10. Merlini G, Lousada I, Ando Y, Dispenzieri A, Gertz MA, Grogan M, Maurer MS, Sancherawala V, Wechalekar A, Palladini G, Comenzo RL. Rationale, application and clinical qualification for NT-proBNP as a surrogate end point in pivotal clinical trials in patients with AL amyloidosis. *Leukemia*, 査読有, 30, 1979-1986, 2016. doi: 10.1038/leu.2016.191.

[学会発表](計 96件)

1. 安東由喜雄: 循環器症状を伴う末梢神経障害疾患 TTR-FAP を見逃さない, 第83回日本循環器学会学術集会ファイアサイドセミナー, Mar 29, 2019, 横浜.
2. Ando Y: History of amyloidosis research in Kumamoto group. XVI International Symposium on Amyloidosis, Mar 26-29, 2018, Kumamoto, Japan.
3. 安東由喜雄: 治る神経内科の実践 アミロイドーシス研究, 治療の進歩, 全国難病センター研究会第29回研究大会, Feb 10-11, 2018, 熊本.
4. Ando Y: Familial amyloid polyneuropathy: diagnosis, pathogenesis, and therapies. 5th Hong Kong Neurological Congress cum 30th Annual Scientific Meeting of the Hong Kong Neurological Society, Nov 10, 2017, Hong Kong.
5. Ando Y: Recent advance in familial amyloid polyneuropathy. World Congress of neurology, Sep 16-21, 2017, Kyoto, Japan.
6. Ando Y: Autonomic dysfunction and FAP. International Society for Autonomic Neuroscience 2017, Aug 30 – Sep 2, 2017, Nagoya, Japan.

7. Ando Y: Familial amyloid polyneuropathy: diagnosis, pathogenesis, and therapies. Autumn congress of Korean Society of Neuromuscular, Nov 26, 2016, Seoul, Korea.
8. 安東由喜雄: 家族性アミロイドポリニューロパチーと自律神経障害, 第 59 回日本自律神経学会, Nov 10-11, 2016, 熊本.
9. 安東由喜雄: アミロイドアンギオパチーの最新の知見, 第 13 回早期認知症学会, 特別講演, Sep 17-18, 2016, 熊本.
10. Ando Y: Antibody therapy for familial amyloid polyneuropathy. XVth International Symposium on amyloidosis, Jul 3-7, 2016, Uppsala, Sweden.
11. 安東由喜雄: 治る神経内科の実践 アミロイドニューロパチー, 第 24 回日本神経学会近畿地区生涯教育講演会, Mar 6, 2016, 豊中.

〔図書〕(計 件)

1. 増田曜章, 安東由喜雄. 中外医学社, Clinical Questions & Pearls 「末梢神経疾患」. 2018, 404
2. 安東由喜雄. 医歯薬出版株式会社, 映画に描かれた疾患と募る想い. 2018, 288
3. 安東由喜雄, 植田光晴. 医歯薬出版株式会社, 最新 アミロイドーシスのすべて ー診療ガイドライン 2017 と Q&A. 2017, 264

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 新規なアミロイド線維生成抑制剤
 発明者: 城野博史, 有馬英俊, 安東由喜雄,
 本山敬一, 東大志
 権利者: 国立大学法人熊本大学
 種類: 特許
 番号: 2017-523714 (日本)
 : 16807597.6 (欧州)
 : 15/580630 (米国)
 出願日: 2016年6月10日

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

大林 光念 (OBAYASHI, Konen)
 熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
 研究者番号: 90361899

山下 太郎 (YAMASHITA, Taro)
 熊本大学・医学部附属病院・特任教授
 研究者番号: 90381003

植田 光晴 (UEDA, Mitsuharu)
 熊本大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号: 60452885

三隅 洋平 (MISUMI, Yohei)
 熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
 研究者番号: 80625781

池田 徳典 (IKEDA, Tokunori)
 熊本大学・医学部附属病院・病院教員

研究者番号：00613530

田崎 雅義 (TASAKI, Masayoshi)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
研究者番号：50613402
(H27～28年度)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。