

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：32665

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06266・19K21358

研究課題名(和文) 糖尿病網膜症の発症予防のためのワクチン治療の開発

研究課題名(英文) Development of vaccine therapy for prevention of diabetic retinopathy

研究代表者

横田 陽匡 (YOKOTA, Harumasa)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：60431417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ワクチン治療は医学史上最も古く、最も成功した治療法と言われている。人類はワクチンの開発によりこれまで多くの感染症を克服してきた。最近になりワクチンは感染症のみならず高血圧、糖尿病、アルツハイマー病、がん、自己免疫性疾患の分野でも応用が期待されている。本研究ではワクチンの眼疾患に対する応用を試みるべく、プロレニンを標的としたプロレニンペプチドワクチンを開発し、その効果を糖尿病モデルで確認した。結果としてプロレニンペプチドワクチンは糖尿病モデルにおける慢性炎症、網膜神経障害を抑制することを確認した。今後は網膜血管への効果、さらに大型の哺乳類に接種してヒトへの応用に近づけた

研究成果の学術的意義や社会的意義

全世界で糖尿病患者数が増加しており、一種のパンデミックとなっている。そのため糖尿病網膜症による失明が増加し、結果として労働者人口が減少、医療費の増大がより深刻化する可能性がある。一方で進行した糖尿病網膜症に対して抗VEGF療法が適応されるが、非常に高価であることが問題となっている。治療ワクチンの特徴は、比較的安価、幅広い疾患に適応が可能であることが挙げられる。もし治療ワクチンが糖尿病網膜症へ応用されれば、医療費の増大を抑制しつつ、より多くの人々を糖尿病による失明から救うことが出来る。

研究成果の概要(英文)：Vaccine therapy has been viewed one of the most successful treatments in the history. In fact, vaccine therapy has saved thousands of lives from life-threatening infectious diseases so far. Nowadays, vaccine is expected to be used for non-infectious diseases such as hypertension, diabetes, Alzheimer's disease, cancer and autoimmune diseases. In our study, we tried to optimize vaccine therapy for diabetic retinopathy by targeting prorenin. Prorenin is the most upstream protein in the renin-angiotensin system and plays a crucial role in the development of diabetic retinopathy. We succeeded in optimizing prorenin peptide vaccine and tested the effect of prorenin peptide vaccine in type 2 diabetes murine model. Our data demonstrate prorenin peptide vaccine prevented neuronal dysfunction and inflammation in the retina. Now we are planning to investigate the precise mechanism of beneficial effect of prorenin peptide vaccine by using porcine model of type 2 diabetes.

研究分野：眼科学

キーワード：ワクチン 糖尿病網膜症 眼疾患 プロレニン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 糖尿病網膜症は我が国の中途失明の主因であり、糖尿病の増加とあいまって今後も大きな社会問題となることが確実視されている。糖尿病網膜症の治療は、進行した網膜症に対する網膜光凝固術、硝子体手術、硝子体内注射などの外科的な治療が主なものになっている。さらにこれらの治療に伴う侵襲によっても視機能が低下する。したがって糖尿病網膜症を早期に予防することが重要である。
- (2) 一方でワクチン治療は古くから行われてきた治療で、最も成功した治療法と言われている。ワクチン治療の歴史は天然痘の撲滅にはじまり、ワクチンは今日でも感染症の予防、治療にはなくてはならない治療法である。最近になり新たなワクチン技術としてペプチドワクチンが挙げられる。これまでの感染症のみならず高血圧、糖尿病、アルツハイマー病などの非感染性慢性疾患への応用も試みられてきている。糖尿病網膜症は糖尿病の発症から 5 年以上をかけて発症し、糖尿病による失明を予防するために中長期的な診療と治療が重要になる。ペプチドワクチンを一度接種することによりその効果が長期的に持続することから、糖尿病網膜症の発症予防を目的としたペプチドワクチン開発の発想に至った。

2. 研究の目的

- (1) 糖尿病網膜症を始めとする糖尿病細小血管障害の発症に重要な役割を果たしているプロレリンを標的としたプロレリンペプチドワクチンを開発すること
- (2) プロレリンペプチドワクチンを糖尿病モデルに接種してその効果を確認すること
- (3) さらにヒト糖尿病に近い、理想の糖尿病モデルを探索すること(将来、プロレリンペプチドワクチンの効果を確認するために応用)

3. 研究の方法

- (1) プロレリンの構造解析から抗原として有用なアミノ酸配列を選択しペプチドを合成し、免疫賦活作用を有する異種蛋白抗原(キーホールリンペットヘモシアニン:KLH))を結合してワクチンを作成する。実際に正常マウスに接種して最も理想的な抗原を決定する。
- (2) 上記で決定したプロレリンペプチドワクチンを 2 型糖尿病マウス (db/db) と非糖尿病マウス(db/m)に接種して効果を確認すること
- (3) ヒト若年発症成人型糖尿病の原因遺伝子を導入した遺伝子改変糖尿病ブタの網膜所見を観察する(もし有意な所見が確認されれば、将来プロレリンワクチンの抑制効果を確認)。

4. 研究成果

- (1) プロレリンペプチドワクチンの抗原:プロレリンには(プロ)レニン受容体に結合するために重要な配列がある。その配列を含む前後 10 個のアミノ酸配列を抗原としてワクチンを作成すると最も効率よく抗体価が上昇することを見出した。またプロレリンペプチドワクチンにより産生されたワクチンはレニンに反応することがなく、非常に特異性が高いことも証明された。これまでにプロレリンだけを特異的に阻害することが技術的に不可能であったことから、ペプチドワクチン技術はプロレリンを阻害するための理想的な方法であることが証明された。

(2) 網膜神経保護効果：プロレニンペプチドワクチンが糖尿病網膜症で早期に観察される神経機能低下を抑制した。図1にあるように糖尿病では神経障害により網膜の潜時が延長する (db/db+KLH)。しかしプロレニンペプチドワクチンは潜時の延長を有意に抑制した (db/db+V_p)。これまで眼科領域、眼疾患に対するワクチン治療の成功例の報告は国内外に一切存在しない。

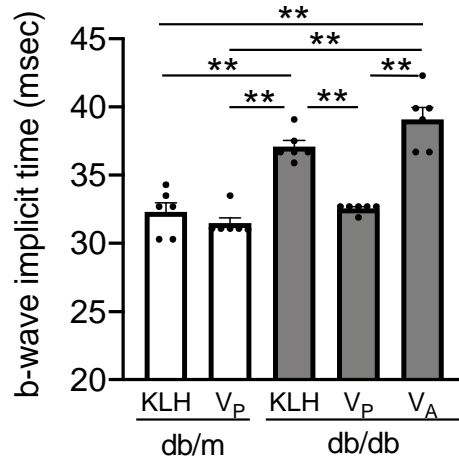


図1 .糖尿病 (db/db) と非糖尿病 (db/m) の網膜電図。プロレニンペプチドワクチン (V_p) は潜時の延長を抑制した。

(3) インスリン抵抗性の改善：プロレニンペプチドワクチンを接種したマウスでは若干血糖が低下する傾向があったことから、インスリン負荷試験を追加実施した。図2に示すように糖尿病マウスではインスリンによる血糖降下作用は確認できないが (HFD+KLH)、プロレニンペプチドワクチンを接種した糖尿病マウスでは有意な血糖低下を確認することができた (HFD+V_p)。インスリン抵抗性は血糖のみならず臓器障害の発症にも深く関与していることが報告されている。

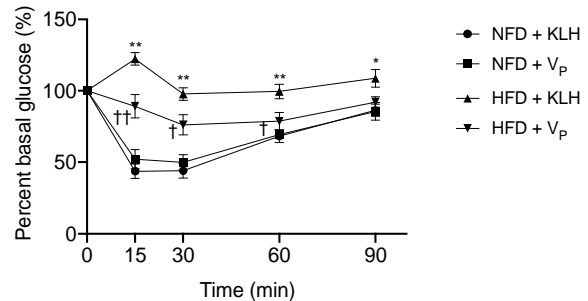


図2 .インスリン負荷試験 .糖尿病 (HFD) と非糖尿病 (NFD)。プロレニンペプチドワクチン (V_p) はインスリン抵抗性を改善した

(4) 遺伝子改変糖尿病ブタの網膜所見：生後4ヶ月、7ヶ月で網膜所見を観察した。網膜内層は有意に菲薄化していて、しかし外層はかえって肥厚していた。ヒト糖尿病網膜症でも内層は神経変性に伴い菲薄化し、さらに浮腫により液体が貯留しやすい比較的外層は見かけ上厚みが増してしまう。またブタ網膜血管でも、ヒトと同様に表層、中間層、深層の毛細血管網を確認することが出来るが、遺伝子改変糖尿病ブタでは全層に渡って血管密度が低下していた。特に中間層の毛細血管密度は50%以上低下しており、今後ヒト糖尿病網膜症での検討が待たれる(生体で中間層を明確に観察する方法が確立されていない)。以上のように今後はマウスよりヒトに近いブタへプロレニンペプチドワクチンを接種して、糖尿病細小血管障害の予防効果を確認することと、併せてワクチンの安全性も検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横田陽匡
2. 発表標題 遺伝子改変糖尿病ブタの網膜血管病変
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----