

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02827

研究課題名（和文）老化細胞除去（Senolysis）ワクチンの実用化研究

研究課題名（英文）Therapeutic vaccine for senolysis

研究代表者

中神 啓徳（Nakagami, Hironori）

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：20325369

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：高齢化の進む我が国では、生活習慣病・慢性炎症に対する予防・早期治療介入の治療ツールとして、年に数回の長期作用型治療ワクチンは将来の治療オプションとなり得る。標的細胞として、心臓の線維化に関連するFAP発現に着目した。FAP陽性の繊維芽細胞は肥大心や不全心に特異的に発現し臓器の線維化を促進することが報告されている。そこで、FAPを標的としたワクチン療法を立案し、マウス心肥大モデルにおけるFAPワクチンの治療効果の検討を行った。FAPを抗原とするワクチンを設計し、2週間間隔で数回ワクチンを投与することにより、FAP特異的な抗体上昇を確認した。薬効試験で、FAP陽性細胞と心線維化の減少を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢社会が進む我が国において、複数の疾患を有する高齢者に生活習慣病治療薬の生涯投薬が多く重複することもあり、ポリファーマシーと呼ばれる多くの薬を内服することによる弊害や、飲み忘れに代表される薬剤アドヒアランス低下などの課題がある。本プロジェクトのような治療ワクチンの実用化が実現できれば、生活習慣病・慢性炎症に対する予防・早期治療介入する治療ツールとして、年に数回の長期作用型治療ワクチンのような治療オプションが提示できる。医療の質を保ちながら、新しい治療オプションを増やすことで、介護や福祉の観点からも有益な治療法となりうる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：In our aging population, a long-acting therapeutic vaccine that is administered several times a year could be a future therapeutic option as a therapeutic tool for prevention and early therapeutic intervention against lifestyle-related diseases and chronic inflammation. As a target cell, we focused on FAP (fibroblast activating protein) expression, which is associated with cardiac fibrosis; it has been reported that FAP-positive fibroblasts are specifically expressed in hypertrophic and failing hearts and promote fibrosis in the organs. We designed a vaccine therapy targeting FAP and investigated the therapeutic effect of FAP vaccine in a mouse model of cardiac hypertrophy. A drug efficacy study confirmed a decrease in FAP-positive cells and cardiac fibrosis.

研究分野：老年内科

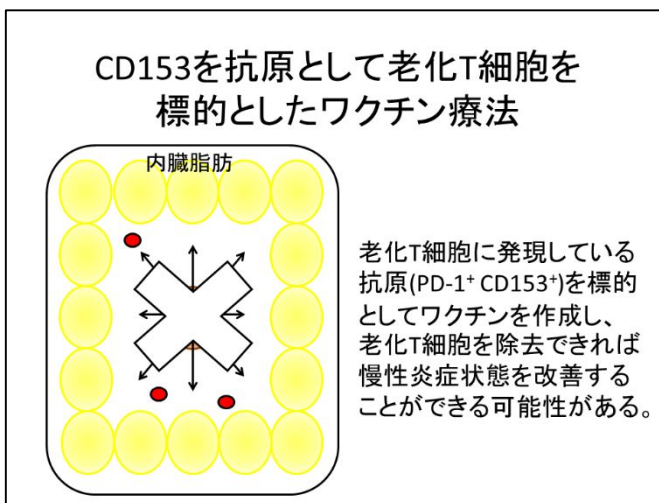
キーワード：ワクチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会が進む我が国において、急増する生活習慣病・慢性炎症に対する予防・早期治療介入する治療ツールとして、年に数回の長期作動型治療ワクチンは将来一つの治療オプションとなり得る。加えて、我々は老化細胞から炎症性サイトカインなどが多量に分泌されることで、周辺の細胞に悪影響を与え組織老化を促進している現象 (SASP: 老化関連分泌現象) に着目し、これらの老化細胞を除去する治療 (Senolysis) にワクチンを活用する新しい治療コンセプトを提唱している。老化細胞に発現する表面抗原 (Seno-antigen) を標的とした老化細胞除去治療に関

しては、p16 陽性老化細胞をアポトーシス誘導により除去しうる遺伝子改変マウスを作製し、老化細胞の除去が早老症モデルマウスや高齢マウスの様々な老化形質を改善することが報告されている (Nature 2011, Nature 2016, Science 2016)。我々はこのコンセプトに基付き、老化 T 細胞を標的として、その特異的な抗原である CD153 を標的としたワクチンを作製した。老化 T 細胞は高脂肪食負荷マウス



スにおいて、内臓脂肪で増加して炎症惹起および糖尿病発症・進展に関与することが報告されているが、ワクチンによって誘導された抗 CD153 抗体により、脂肪組織での老化 T 細胞の増加抑制および高脂肪食負荷による耐糖能異常が抑制された (Nat. Commun 2020)。また、順天堂大学循環器内科のグループからも、老化細胞特異的な抗原を標的としたワクチン治療で老化細胞を除去することによって、マウスの寿命延長、動脈硬化抑制、耐糖能の改善などの効果が報告されており (Nat. Aging 2022)、老化関連疾患に対する新規治療法としての、治療ワクチンの可能性が広がっている。

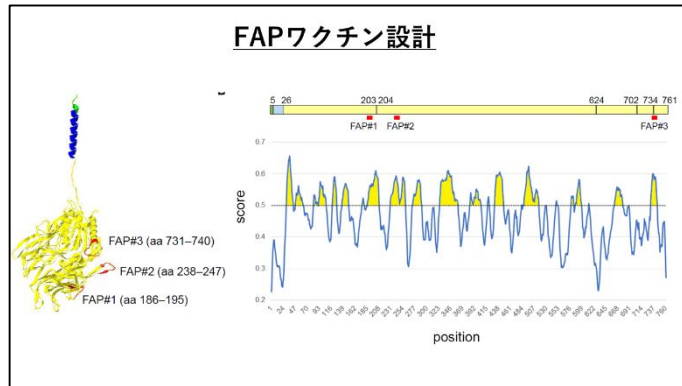
### 2 研究の目的

本研究の基盤技術である治療ワクチンは抗体治療であり、抗体のエフェクター機能 (ADCC 活性、CDC 活性、オプソニン化) による標的細胞への攻撃・除去作用を活用することにより、Senolysis の治療ツールとして他疾患への応用の可能性を考えた。

標的細胞として、心臓の線維化に関連する FAP (fibroblast activating protein) 発現に着目した。FAP 陽性の繊維芽細胞は肥大心や不全心に特異的に発現し、周囲の細胞や臓器の線維化を促進することが報告されている。そこで、FAP を標的としたワクチン療法を立案した。マウス心肥大モデル (アンジオテンシン II およびフェニレフリン持続投与) における FAP ワクチンの治療効果の検討を行った。また、このような抗体誘導型ワクチンの祈願技術として濾胞性 T 細胞に着目し、その活性化による持続的かつ選択的な抗体産生を実現するための研究開発に取り組む。

### 3. 研究の方法

FAPのアミノ酸配列の特性および構造解析の結果から、B細胞それぞれに対するペプチドワクチン候補を3種類設計して、マウスに投与して経時的な抗体価の確認を行う。さらに、リコンビナントCD153蛋白に対する反応性をwestern blotで確認し、最適なワクチンの絞り込みを行う。

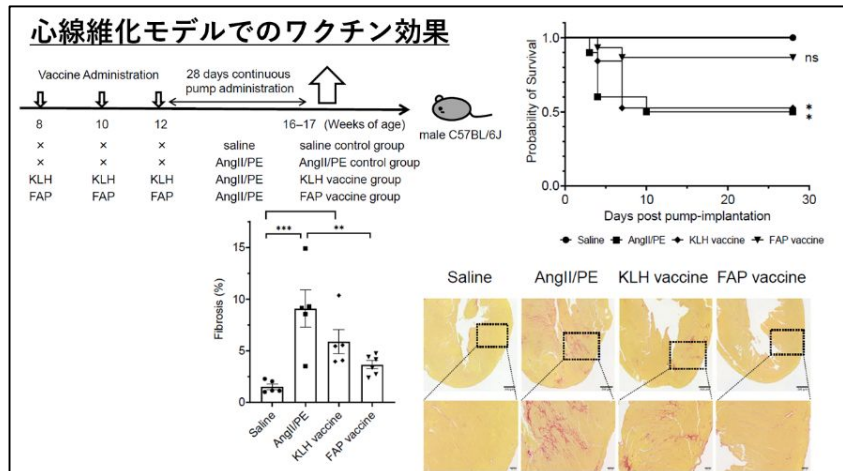
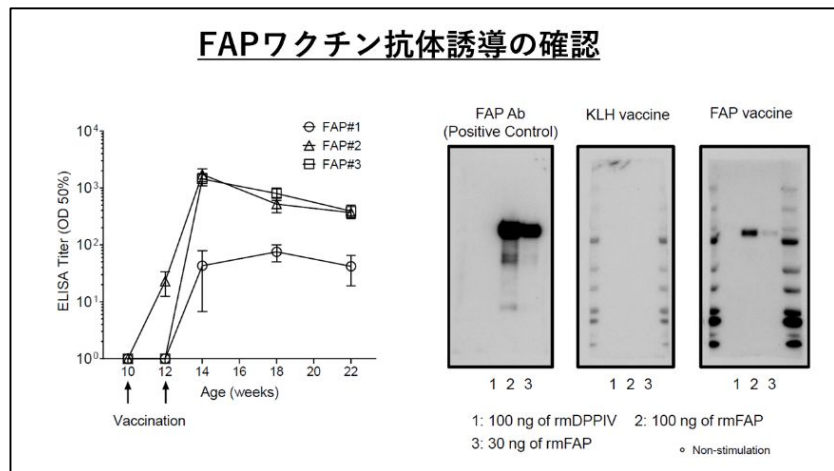


薬効評価として、浸透圧ミニポンプを用いたアンジオテンシンIIおよびフェリレフリン持続投与（4週間）による心肥大・線維化モデルを用いる。8週齢のC57BL/6マウス（オス）にワクチンを2週毎に3回投与した後に、モデル作製を行い、生存期間評価、機能評価として、心線維化の病理学的解析、FAP陽性細胞数の評価などを実施した。

### 4. 研究成果

FAPを標的としたワクチンを設計し、心肥大・線維化モデルで評価を行った。3種類のワクチンとも抗体価が上昇しており、初回投与後12週まで抗体価が持続していた。その中から候補ワクチンの絞り込みを行い、ワクチン投与後の血清を1次抗体として用いてマウスリコンビナント蛋白(mrFAP)に対する反応性を評価した。結果、FAPワクチン投与後血清を用いたwestern blotで陽性コントロール（市販抗体）と同様のサイズで免疫反応性が確認できた。FAPはDPP4と相溶性が高い蛋白であることが知られているが、マウスリコンビナントDPP4蛋白に対しては、免疫反応性はなかった。以上より、FAPワクチン投与により、FAP特異的な抗FAP抗体が誘導出来ていることが示唆された。

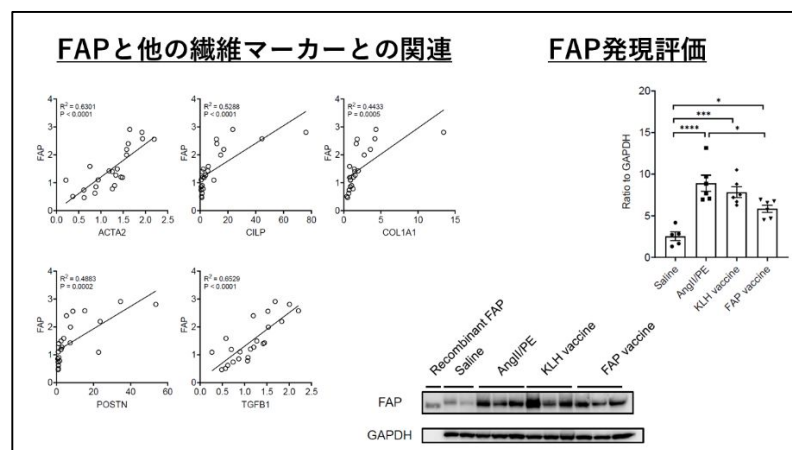
薬効評価として、8週齢のC57BL/6マウス（オス）にワクチンを2週毎に3回投与した後に、浸透圧ミニポンプを用いたアンジオテンシンIIおよびフェニレフリン持続投与（4週間）による心肥大・線維化モデルを用いた検討を行った。結果として、アンジオテンシンIIおよびフェニレフリン持続投与完了後10日後の時点で、50%



のマウスが死亡していたが、事前にFAPワクチンを投与したマウスにおいて、90%のマウスが生存していた。一方、陰性コントロール群 (KLH vaccine) では50%の死亡率であることから、ワクチン投与により生存率が向上していた。

次に機能評価として、心線維化の病理学的解析を行った。結果、アンジオテンシンIIおよびフェニレフリン持続投与により心線維化は有意に増加したが、FAPワクチン投与により心線維化が有意に抑制された。そのときのFAP発現に関する評価を行った。心臓におけるFAPのmRNAをqPCR法で定量した結果、アンジオテンシンIIおよびフェニレフリン持続投与でFAPの発現は有意に増加するが、FAPワクチン投与でその増加が抑制された。また、心臓でのFAP蛋白発現を検討したところ、mRNA発現と同様にアンジオテンシンIIおよびフェニレフリン持続投与でFAPの発現は有意に増加するが、FAPワクチン投与でその増加が抑制されていた。以上の結果から、FAPワクチンを投与しておくことにより、心肥大・心線維化モデルにおける生存率の向上および心臓でのFAP発現低下に伴う心線維化抑制が認められた。

FAPは心線維化に伴い心臓繊維芽細胞で発現が増加することが知られているが、他の線維化マーカーとのmRNA発現比較検討をqPCRを用いて実施した。いずれの心線維化マーカーとも発現は有意に相関していたが、CLIP, 1型collagenA1, periostinの発現が低い場



合でも、FAPの発現が認められる検体が多いのに対し、ACTA2およびTGF- 1は高い相関係数を示したことから、発現パターンが類似していることが示唆された。

以上の結果から、FAPワクチンの心肥大・心線維化モデルでの有効性が示唆された。今後の検討課題として、心肥大・心線維化モデル以外の病態でFAP抗体が疾患増悪させる可能性がないかを検討する必要がある。特にFAP陽性繊維芽細胞は臓器損傷の急性期において、傷修復に関与していることが報告されていることから、皮膚損傷モデルや心筋梗塞モデルでのFAPワクチンの効果・安全性に関する評価を行っている。また、このような抗体誘導型ワクチンの基盤技術として濾胞性T細胞に着目し、その活性化による持続的かつ選択的な抗体産生を実現するための研究開発に取り組んでいる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitsuka T, Shiraki A, Oyama JI, Nakagami H, Tanaka A, Node K.	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel soluble epoxide hydrolase vaccine protects murine cardiac muscle against myocardial infarction.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 6923
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-10641-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 6件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 中神啓徳
2. 発表標題 老化細胞除去を目指した免疫治療の可能性
3. 学会等名 第48回日本臓器保存生物医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hironori Nakagami
2. 発表標題 Vaccine development based on gene therapy technology
3. 学会等名 International Vascular Biology Meeting 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hironori Nakagami
2. 発表標題 Therapeutic Vaccine for chronic diseases
3. 学会等名 The 29th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中神啓徳
2. 発表標題 生活習慣病に対する治療ワクチンの開発
3. 学会等名 第54回日本動脈硬化学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中神啓徳
2. 発表標題 老化細胞制御による探索的治療への挑戦
3. 学会等名 第21回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中神啓徳
2. 発表標題 老化細胞除去治療の実用化に向けて
3. 学会等名 第63回日本老年医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021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
研究分担者	林 宏樹  (Hayashi Hiroki)  (20813364)	大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授    (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	島村 宗尚  (Shimamura Munehisa)  (60422317)	大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座教授     (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関