

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10470

研究課題名(和文) IL-17を標的としたDNAワクチンによる関節リウマチ骨破壊抑制治療の確立

研究課題名(英文) The prophylactic effect of IL-17A DNA vaccine on arthritis

研究代表者

富田 哲也 (tomita, tetsuya)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：30283766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：IL-17AエピトープDNAワクチンをDBA/1Jマウスに2週間隔で3回投与した後、II型コラーゲンを投与して関節炎を惹起させ、関節炎スコアの上昇程度をワクチン無投与群と比較した。その結果、IL-17Aワクチン群で抗IL-17A抗体の産生と、有意な関節炎スコアの抑制が認められた。DBA/1Jマウスに抗II型コラーゲンモノクローナル抗体カクテルおよびLPSを投与することにより関節炎を惹起するモデルでも同様の実験を行った。IL-17Aワクチン予防投与群で、有意な関節炎スコアの抑制が認められた。この抑制効果は抗マウスIL-17A中和抗体の治療投与群よりも有意に優れていた。

研究成果の概要(英文)：We examined the prophylactic effect of IL-17 A DNA vaccine on two different arthritis mouse models. Production of anti-IL-17A antibody was confirmed after IL-17 A DNA vaccination. The arthritis score and destruction of joints was significantly suppressed by IL-17 A DNA vaccination in both arthritis models. These results demonstrated the prophylactic effect of IL-17 A DNA vaccine on joint destruction in arthritis.

研究分野：整形外科学

キーワード：整形外科学 リウマチ病学 DNAワクチン IL-17A

1. 研究開始当初の背景

我が国をはじめ世界中の国々では高分子タンパク製剤である抗体医薬に対する医療費の高騰が大きな問題になっている。特に我が国では国民皆保険という非常に優れた医療保険システムが存在するため、医療費高騰が支出予算に占める割合も高い。我々は関節リウマチ関節破壊に対するより効果的な治療法と医療費削減の両面より、アカデミア創薬という視点で“ワクチン”という手法を用い、生体が所持する免疫応答を活用することにより、関節リウマチに代表される難治性疾患に対する分子標的創薬に代わる新治療法、“液性免疫を主導とするワクチン”を提案する。生活習慣病の医療費削減に対する一つの方策として、薬剤に代わるワクチンを考案した。2008年に世界で初めての高血圧に対するアンジオテンシン II を標的としたワクチン治療の臨床試験(フェーズ II)で血圧の有意な低下が報告されたが、臨床試験でペプチドワクチンでは十分な薬効が得られず開発中止となった。近年の免疫学の進歩によりワクチンに対する免疫応答の仕組みが解明され我々は DNA ワクチンの基盤後術を確立してきた(特願 2011-091493, PCT JP2012/60099)。技術的には高効率な抗体産生のため B 型肝炎ウイルスのコア蛋白(HBc)の B cell エピトープに AngII を挿入することで分泌蛋白となるようにし、HBc の自己凝集能を生かして AngII が球表面に多数提示されることで免疫系に認識されやすくする工夫を施した。またワクチンにはアジュバントが必要とされるが、DNA ワクチンは不要であり製剤化を単純化できる長所がある。この DNA ワクチンを自然高血圧発症ラットに投与したところ、AngII に対する抗体価の上昇と血圧の有意な低下を約 6 か月間維持できることも分かった。本研究成果は独創的かつ新規的な試みであり、関連特許もすでに出願中である(特願 2011-091493, PCTJP2012 060099)。同様の手法を用いて糖尿病治療を目指した DPP4 ワクチンの最適化検討も実施する(特願

2013-183390)。DNA ワクチンの期待される効果として、従来のペプチドワクチンに比較して抗原提示期間が長いこと免疫反応がより長く持続して長期間の薬効が期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は関節リウマチ関節破壊に対して IL-17 をターゲットとした新規治療法の確立である。我々はアカデミア創薬という視点で“ワクチン”という手法を用い、生体が所持する免疫応答を活用することにより、関節リウマチに代表される難治性疾患に対する分子標的創薬に代わる新治療法、“液性免疫を主導とするワクチン”を提案する。我々が開発した NDA ワクチンを用い抗 IL-17 抗体を産生されることで関節リウマチ関節破壊に対する治療効果を検討することを目的としている。

3. 研究の方法

1) IL-17A ワクチンの確立

IL-17A ワクチンを正常マウスに投与し経時的に血中 IL-17A 濃度および抗体価を測定する。

2) 関節炎モデルマウスでの治療効果の検討

CIA マウスではその関節炎発症、病態形成に IL-17A が重要な役割を果たしている事はすでに解明されている。CIA マウスを用い IL-17A ワクチンを接種し、関節炎治療効果、罹患関節破壊抑制効果につき検討する。

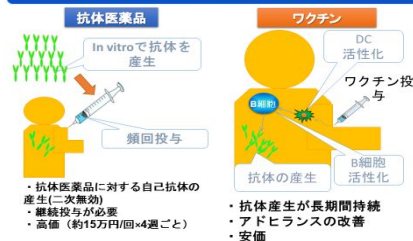
4. 研究成果

1) 関節リウマチを標的疾患とした IL-17A ワクチン療法の開発 IL-17A エピトープ DNA ワクチンを DBA/1J マウスに 2 週間隔で 3 回投与した後、II 型コラーゲンを投与して関節炎を惹起させ、関節炎スコアの上昇程度をワクチン無投与群と比較した。その結果、IL-17A ワクチン群で抗 IL-17A 抗体の産生と、有意な関節炎スコアの抑制が認められた。DBA/1J マ

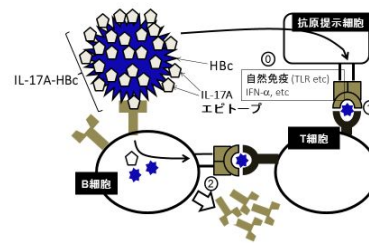
ウスに抗 II 型コラーゲンモノクローナル抗体カクテルおよび LPS を投与することにより関節炎を惹起する、より重症度の高いモデルでも同様の実験を行った。その結果、IL-17A ワクチン予防投与群で、有意な関節炎スコアの抑制が認められた。この抑制効果は抗マウス IL-17A 中和抗体の治療投与群よりも有意に優れていた。またワクチン群、対照ワクチン群、抗コラーゲン抗体投与(-)群の関節破壊の程度をマイクロ CT を用いて確認した。その結果、ワクチン群で関節破壊の抑制が観察された。これらの結果から本ワクチンは関節リウマチに対して治療効果が期待できると考えられた。現在は疾患モデルマウスの関節炎の組織学的評価や、IL-17A ワクチン療法の最適化の検討などを進めている。

2) ヒト関節リウマチ培養滑膜への治療効果の検討およびヒト関節軟骨滑膜器官培養モデルでの検討、本ワクチンのエピトープ配列はヒトとマウスで2アミノ酸だけが異なっている。このヒトとマウスのエピトープには交差反応性があることを確認しているが、ヒト培養細胞を用いる実験にはヒトエピトープのワクチンを用いることとした。そこでヒトエピトープの IL-17A ワクチンを Balb/c マウスに2週間隔で3回投与し、経時的に血清を回収した。ELISA で抗体価を確認し、in vitro 実験に必要な抗 IL-17A ヒトエピトープ抗血清を作成した。

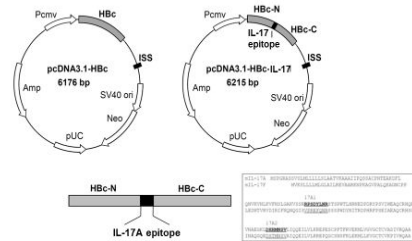
抗体医薬品と自己抗原ワクチンの違い



自己抗原ワクチンのしくみ

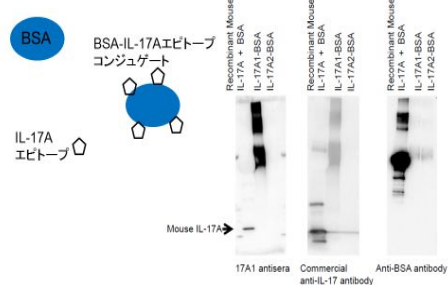


HBc-IL-17A エピトープ DNA ワクチンの作製



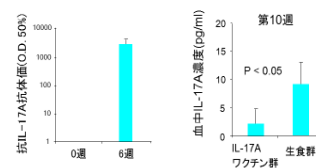
DNA ワクチンベクターを2個(17A1, 17A2)作製した。

抗IL-17A抗体の検出



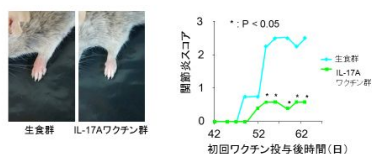
17A1 DNA ワクチン投与により、IL-17A に特異的な抗体が産生された

抗IL-17A抗体の産生と血中IL-17A濃度



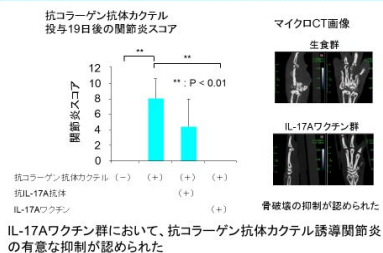
DBA1マウスにIL-17ADNAワクチンを投与した結果、抗IL-17A抗体が産生された。またそれに伴い血中IL-17A濃度の低下が認められた。

関節炎スコア



IL-17Aワクチン群で関節炎スコアの有意な改善を認めた

Murine anti-collagen Ab induced arthritis model



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 1 件)

富田哲也、郡山弘、中神啓徳、森下隆一．関節炎に対する IL-17 ワクチンによる新規治療法の開発．第 26 回日本脊椎関節炎学会、

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

富田 哲也 (TOMITA, Tetsuya)

大阪大学大学院医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：30283766

(2)研究分担者

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

二井 数馬 (HUTAI, Kazuma)

大阪大学大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30588380

吉川 秀樹 (YOSHIKAWA, Hideki)

大阪大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60191558