

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16429

研究課題名（和文）脂質異常症ワクチンの適応拡大を目指した基盤研究

研究課題名（英文）Fundamental research to expand indications for dyslipidemia vaccine

研究代表者

深水 大天（Fukami, Hirotaka）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・特任助教

研究者番号：00908006

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：動脈硬化性疾患などの脂質異常症関連疾患の増加に対し、治療選択は十分ではない。申請者は、過去の研究で肥満モデルマウスにおいてANGPTL3を標的としたワクチンが脂質プロファイルを改善することを確認した。実用化に向け、B細胞およびT細胞エピトープの最適化が進展した。現行のワクチンはヒトとマウスの共通配列を持つ10アミノ酸で構成されるが、短縮や修飾を加えたエピトープでも同等の効果が確認された。糖尿病モデルマウスや、家族性高コレステロール血症モデルマウスでも同様の効果が見られた。T細胞エピトープについては、別のキャリアに置き換えたワクチンでも従来型と同様の効果が確認され、実用化に向けた改良が進んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、脂質異常症およびその関連疾患に対するANGPTL3抑制ワクチンの安全性と有効性を動物実験で確認し、臨床応用の可能性を探ることである。ANGPTL3は血管新生や脂質制御に関与しており、現在ではヒト化抗ANGPTL3モノクローナル抗体が日本や欧米で家族性高コレステロール血症の治療薬として承認されている。しかしながら、抗体薬等のバイオ医薬品は薬価が高く、患者や社会に対する経済的負担を増大させるため、費用対効果に優れたANGPTL3ワクチンの開発が重要である。また、本ワクチンは、既存薬が何らかの理由で使用できない患者に対するセカンドライン薬としても有用である。

研究成果の概要（英文）：The current treatment options for atherosclerotic diseases caused by dyslipidemia are inadequate. In a previous study, the applicant confirmed that a vaccine targeting ANGPTL3 significantly improved the lipid profile of a mouse model of obesity. Substantial progress has been made in optimizing both B-cell and T-cell epitopes for practical applications. The current vaccine consists of a 10-amino-acid sequence common to both humans and mice. However, shortened and modified epitopes have been demonstrated to be equally effective. A similar efficacy was observed in diabetic and familial hypercholesterolemia mouse models. Furthermore, the T-cell epitope retained its effectiveness even when the vaccine carrier was replaced with an alternative, indicating that the vaccine is being successfully improved for practical use. These advancements highlight the potential of this vaccine to address the growing need for effective treatment of dyslipidemia and its associated atherosclerotic diseases.

研究分野：脂質異常症

キーワード：ANGPTL3 ペプチドワクチン 家族性高コレステロール血症 動脈硬化性疾患 治療ワクチン

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

近年、脂質異常症を起点とする心臓血管病や NAFLD は世界的に増加しており (心臓血管病有病率: 世界で 5 億 2300 万人、NAFLD 有病率: 日本 9~30%、米国 30%、中東・南米 30%超) 人類の健康寿命延伸および医療経済の持続可能性から重要な社会的問題といえる。

近年、脂質異常症の新たな治療標的として ANGPTL3 (アンジオポエチン様因子 3) が着目されている。ANGPTL3 は血管新生作用のほか、リポプロテインリパーゼ (LPL) 阻害作用を介した脂質制御作用が知られているが、ヒトにおける loss of function mutation は明らかな病原性を示さず、LDL-C 等の血中脂質プロファイルを改善し、心血管疾患 (CVD) 発症リスクを抑制する。現在、抗 ANGPTL3 抗体や siRNA を用いた ANGPTL3 抑制による薬剤開発が進められ、ヒト治療抵抗性脂質異常症において現行治療への上乗せ効果が証明されている (Raal FJ, et al. N Engl J Med. 2020)。しかし、これらバイオ医薬品は一般的に高額である (抗体薬は 2024 年 1 月に日本でも製造販売が承認された)。このような理由から、世界の貧困層を含めたあらゆる脂質異常症患者に対し、予防接種ワクチンのように費用対効果が高く、アドヒアランスに優れた治療法の開発が待望されている。

## 2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、脂質異常症とその関連疾患としての動脈硬化および NAFLD/NASH-肝臓がんに対する ANGPTL3 ワクチンの安全性と有効性を動物レベルで明らかにし、臨床応用の可能性を探索することにある。本ワクチンは感染症に対する予防接種のように高い費用対効果で、脂質異常症関連疾患の治療を可能とし、地球上の発展途上国や貧困層に恩恵を与えることが可能である。

ANGPTL3 は血管新生作用や、Lipoprotein lipase (LPL) 阻害作用による脂質制御作用が知られており、現在は抗体や核酸薬による ANGPTL3 抑制薬開発が進められているが、これらバイオ医薬品は高額と予想されるため、安価な治療薬開発が望ましい。本ワクチンは主にペプチドとアジュバンドから構成されるため、抗体医薬等と異なりバイオ製造設備を必要とせず、投与間隔も数ヶ月から半年程度と長く、少ない投与回数で効果的に治療可能であることから、製造コストやアドヒアランスの面でメリットが大きい。更に、本研究の ANGPTL3 ワクチンのエピトープ (E3) はマウスとヒト間でアミノ酸配列が 100% 一致しており、将来の臨床応用可能性が極めて高い。これらの理由から、脂質異常症ワクチンという独創的な切り口で ANGPTL3 機能制御に挑む本研究は注目度が高い。

## 3. 研究の方法

[1] ANGPTL3 ワクチンの最適化:

現行のワクチンデザインではエピトープ部位がヒトとマウスの共通配列を示す 10 アミノ酸から構成されるが、本アミノ酸配列に対し更に数アミノ酸を付加あるいは短縮したエピトープの有効性を評価することで、最適なデザインのエピトープを選択することが可能となる。本項目は臨床応用の実現性を着実に高めるための重要なマイルストーンとなる。また、キャリア蛋白の構造修飾によりワクチン効果延伸が期待されることから、本項目では KLH (keyhole limpet hemocyanin) 以外のキャリアと ANGPTL3 ペプチドの conjugate デザインの有効性検討も含める。

[2] ANGPTL3 ワクチンの動脈硬化進展に対する効果検討:

本ワクチンの動脈硬化に対する有効性を検討する目的で、B6.KOR/StmSlc-Apoe<sup>shl</sup> (自然発症 Apoe 欠損) マウス高コレステロール負荷モデルを 30 週間飼育した後サクリフェイス、大動脈プラーク形成および大動脈弁輪部のプラーク形成を oil red-O 染色で評価する。

[3] ANGPTL3 ワクチンの NAFLD/NASH がんモデルに対する効果検討：

肥満を伴うヒト NAFLD/NASH 患者病態に近いマウスモデルとして、MC4R 欠損マウス Western diet 負荷モデルを用いる。なお、本検討では ANGPTL3 ワクチンの効果を長期にわたり持続させる目的で、前述のプロトコルに加え、ブースターにより追加免疫を行う予定である。本検討では、肝臓炎症や線維化、炎症性サイトカイン発現等を評価する目的で、肝臓の病理組織、遺伝子発現、蛋白発現等を評価する。

#### 4 . 研究成果

[1] ANGPTL3 ワクチンの最適化:

現行のワクチンは、B 細胞エピトープ部位がヒトとマウスの共通配列を持つ 10 アミノ酸で構成されるが、さらに 3 アミノ酸を短縮したエピトープでも同等の脂質異常症改善効果が確認された。この結果により、自己免疫疾患発症のリスクをさらに低下させることが期待される。さらに、糖尿病・脂質異常症モデルである KK-Ay/TaJcl の雌マウスや、家族性高コレステロール血症モデルである ApoE<sup>shl</sup> の雄マウスを用いた研究においても、短縮した B 細胞エピトープや人工的に修飾されたアミノ酸を組み込んだワクチンが従来型ワクチンと同等の効果を示した。T 細胞エピトープについては、従来は KLH をキャリア蛋白として用いてきたが、臨床応用されている別のキャリア蛋白に置き換えたワクチンを作製し、実験動物に投与した結果、複数の候補キャリアで従来型ワクチンと同様の効果が確認された。これにより、糖尿病モデルマウスや家族性高コレステロール血症モデルマウスでも同様の効果が見られ、実用化に向けた改良が進んでいる。

[2] ANGPTL3 ワクチンの動脈硬化進展に対する効果検討:

家族性高コレステロール血症モデルにおいて、ANGPTL3 ワクチン群はコントロール群と比較して動脈硬化領域が減少していた。このことから、本ワクチンによる動脈硬化進展抑制効果が示唆された。

[3] ANGPTL3 ワクチンの NAFLD/NASH がんモデルに対する効果検討：

ANGPTL3 ワクチンの NASH および肝癌に対する効果と安全性の評価においては、MC4R 欠損マウスに Western diet を負荷したモデルを用いて検討を行った。しかし、当研究室の飼育環境下では、治療介入の有無にかかわらず、組織の線維化や癌の発生は十分に認められなかった。現在、別のモデル動物を用いた実験を進めており、実験プロトコルの再考と併せて、NASH および肝癌に対する効果と安全性の評価を改めて行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Morinaga Jun, Kashiwabara Kosuke, Torigoe Daisuke, Okadome Yusuke, Aizawa Kenichi, Uemura Kohei, Kurashima Ai, Matsunaga Eiji, Fukami Hiroataka, Horiguchi Haruki, Sato Michio, Sugizaki Taichi, Miyata Keishi, Kadomatsu Tsuyoshi, Mukoyama Masashi, Nagai Ryozo, Oike Yuichi, et al.	4. 巻 43
2. 論文標題 Plasma ANGPTL8 Levels and Risk for Secondary Cardiovascular Events in Japanese Patients With Stable Coronary Artery Disease Receiving Statin Therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 1549 ~ 1559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.122.318880	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 -

1. 著者名 Fukami Hiroataka, Morinaga Jun, Nakagami Hironori, Hayashi Hiroki, Okadome Yusuke, Matsunaga Eiji, Kadomatsu Tsuyoshi, Horiguchi Haruki, Sato Michio, Sugizaki Taichi, Miyata Keishi, Torigoe Daisuke, Mukoyama Masashi, Morishita Ryuichi, Oike Yuichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Efficacy and safety in mice of repeated, lifelong administration of an ANGPTL3 vaccine	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 npj Vaccines	6. 最初と最後の頁 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41541-023-00770-3	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 -

1. 著者名 Okadome Yusuke, Morinaga Jun, Yamanouchi Yoshinori, Matsunaga Eiji, Fukami Hiroataka, Sakaguchi Takeshi, Hirayama Ryo, Ishimura Tatsuhiro, Kuwabara Takashige, Usuku Koichiro, Yamamoto Tatsuo, Mukoyama Masashi, Suzuki Ryusuke, Fukui Toshihiro, Oike Yuichi, et al	4. 巻 27
2. 論文標題 Increased numbers of pre-operative circulating monocytes predict risk of developing cardiac surgery-associated acute kidney injury in conditions requiring cardio pulmonary bypass	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 329 ~ 339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-022-02313-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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hirotaka Fukami, Jun Morinaga, Hironori Nakagami, Masashi Mukoyama, Yuichi Oike
2. 発表標題 Development of Vaccine Therapeutics Targeting ANGPTL3 for Dyslipidemia and Atherosclerotic Disease.
3. 学会等名 The 88th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, Symposium Session (招待講演)
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、森下 竜一、向山 政志、尾池 雄一
2. 発表標題 健康長寿を阻害する動脈硬化関連疾患へのワクチン治療薬開発
3. 学会等名 第13回日本脳血管・認知症学会総会, シンポジウムセッション (招待講演)
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、松永 英士、中神 啓徳、森下 竜一、栗原 孝成、尾池 雄一、向山 政志
2. 発表標題 アンジオポエチン様因子3 (ANGPTL3) を標的とした脂質異常症および関連疾患治療ワクチンの開発
3. 学会等名 Science Pioneers Consortium 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、森下 竜一、向山 政志、尾池 雄一
2. 発表標題 健康長寿を阻害する動脈硬化関連疾患へのワクチン治療薬開発
3. 学会等名 第18回 脳心血管抗加齢研究会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、栗原 孝成、森下 竜一、尾池 雄一、向山 政志
2. 発表標題 Development of a therapeutic vaccine for dyslipidemia and related diseases targeting angiotensin-like protein 3 (ANGPTL3).
3. 学会等名 第29回 国際高血圧学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 健康長寿を阻害する動脈硬化関連疾患へのワクチン治療薬開発
2. 発表標題 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、栗原 孝成、向山 政志、尾池 雄一
3. 学会等名 第54回 日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、森下 竜一、栗原 孝成、尾池 雄一、向山 政志
2. 発表標題 アンジオポエチン様因子3 (ANGPTL3) を標的とした脂質異常症および関連疾患治療ワクチンの開発
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深水 大天、森永 潤、中神 啓徳、森下 竜一、栗原 孝成、尾池 雄一、向山 政志
2. 発表標題 臨床研究に基づく治療候補選定及びangiotensin様 蛋白3 (ANGPTL3) を標的とした脂質異常症ワクチンの開発
3. 学会等名 第119回 日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 脂質異常関連疾患治療薬	発明者 尾池 雄一、森永 潤、深水 大天	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2022/020850	出願年 2022年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------