

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670267

研究課題名(和文) 高血圧ワクチン実用化に向けたミニブタでの薬効評価-降圧治療の質的改善を目指して-

研究課題名(英文) Evaluation of hypertension vaccine using pig model

## 研究代表者

中神 啓徳 (Nakagami, Hironori)

大阪大学・連合小児発達学研究所・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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：次世代医療としてワクチンを生活習慣病治療へ応用し、安全性の高い高効率な治療ワクチンの基盤技術開発・実用化を目的とする。我々は高効率に抗体産生を誘導する新規ワクチンシステムを開発しており、マウス・ラットにおいてアンジオテンシンIIを標的とした高血圧ワクチンの効果を明らかにしている。液性免疫主導の高血圧ワクチンを最初のテーマとして実用化を目指し、自治医大の先端医療技術開発センターでミニブタを用いた薬効評価・ワクチンに最適な無針注射器の開発を産学連携体制で行う。

研究成果の概要(英文)：Vaccines are commonly used as a preventive medicine for infectious diseases worldwide; however, the trial for an amyloid beta vaccine against Alzheimer's disease will open a new concept in vaccination. In case of therapeutic vaccines for cancer, their targets are usually specific antigens in cancer cells, allowing activated cytotoxic T cells (CTLs) to attach and remove the antigen-presenting cancer cells. In our therapeutic vaccines against hypertension, the target is angiotensin II (Ang II) and induced anti-AngII antibodies could efficiently ameliorate high blood pressure in rat. We further evaluated the effect of AngII vaccine on pig model in this project with collaboration with Osaka University and Jichi Medical University. We also used the needless-injector for this purpose.

研究分野：老年病、遺伝子治療

キーワード：高血圧 ワクチン

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の高血圧の有病率は非常に高く国民の約 40%が「血圧高め」に属する。降圧剤は国内医療用医薬品市場の約 20%を占めており、患者数の増加に伴い 2018 年には 1 兆 400 億円に達すると予測されていることから、医療費削減のためには高血圧を筆頭とした生活習慣病に対する方策が急務であると考えられる。高血圧・脂質異常症・糖尿病といった薬物治療が主流の生活習慣病治療にワクチン治療を導入することができれば、薬剤に費やす医療費の削減・薬剤の多剤併用を減らすことによる副作用の軽減・経口投与困難な高齢者・服薬コンプライアンスの悪い患者へのサポートなどの社会貢献が期待できると考える。また、被災地や発展途上国などの降圧剤が充分に行き届かないケースにおいても、年に数回のワクチン治療は社会的な需要は高いと考えられ、日本発の新規イノベーションとなる可能性を秘めている。

先行研究では高血圧ワクチンとして、アンジオテンシン I (Reade R, *Arch Mal Coeur Vaiss*, 1989) および II (Nakagami F, et al. *PLoS ONE* 2013, Ambuhl PM, *J Hypertens*, 2007)、1 型アンジオテンシン受容体などを標的分子とした研究が報告されており、さらに我々はラットで無針注射器を用いてアンジオテンシン II を標的とした DNA ワクチンの開発にも成功している。また、2008 年には世界で初めての高血圧に対するワクチン治療の臨床試験で血圧の有意な低下が報告され (Lancet 2008)、その将来的な可能性に期待が集まっている。

### 2. 研究の目的

次世代医療としてワクチンを生活習慣病治療へ応用し、安全性の高い高効率な治療ワクチンの基盤技術開発・実用化を目的とする。我々は高効率に抗体産生を誘導する新規ワクチンシステムを開発しており (特願 2011-091493)、マウス・ラットにおいてアンジオテンシン II を標的とした高血圧ワクチンの効果を明らかにしている。液性免疫主導の高血圧ワクチンを最初のテーマとして実用化を目指し、自治医大の先端医療技術開発センターでミニプタを用いた薬効評価・ワクチンに最適な無針注射器の開発を産学連携体制で行う。年々増大する社会保障費の中で医療費を削減するための手段として治療ワクチンという選択肢を提供すること、また被災地や発展途上国などの降圧剤が行き届か

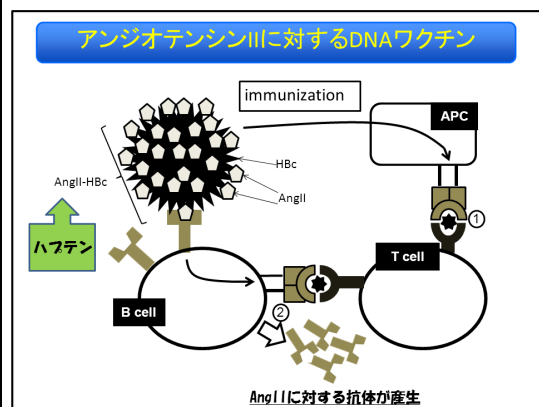
ない地域における治療法を開発するために、日本発の生活習慣病ワクチン開発のトランスレーショナルリサーチを遂行する。

### 3. 研究の方法

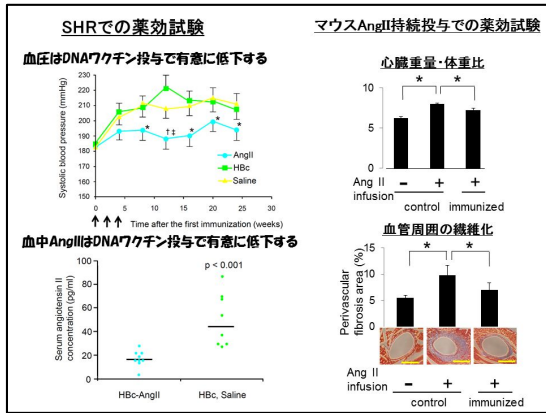
マイクロミニプタの 2 kidney 1 clip Goldblatt 型腎性高血圧モデルを作成し、テレメトリーを用いて 24 時間血圧で高血圧の程度を評価する。アンジオテンシン II ワクチンを投与し、無投与群と共に 2 か月の観察を行い、抗体価の定量と薬効評価・安全性評価を行う。テレメトリーによる 24 時間血圧評価による降圧治療の質的な評価を行う。投与方法は臨床応用を見据えて株式会社ダイセルと共同開発している無針注射器を用いる。投与量・回数最適化を図りながら小動物による安全性評価・作用機序の検討も並行して行い、その結果をフィードバックさせることでワクチンに最適な医療機器開発に向けた実用化検討を行うとともに、安全性や操作性、消音化、軽量化などの観点で、ユーザーフレンドリーな医療機器を目指した商品設計を行うべく、将来的な実臨床に即した方向への改良を検討する。

### 4. 研究成果

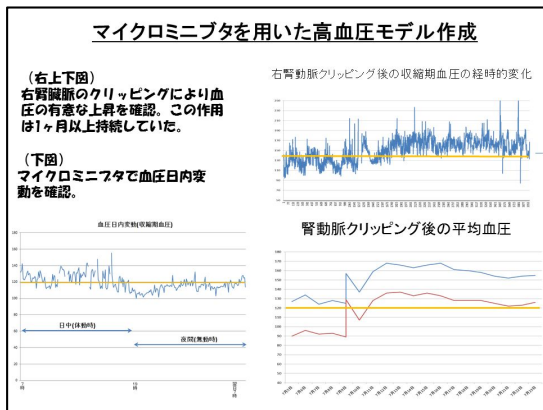
先行研究でマウス・ラットでのアンジオテンシン II ワクチンを確立している。アンジオテンシン II (AngII) は 8 アミノ酸からなるペプチドで一般に免疫応用がおこりにくいため (ハプテン)、それに対するワクチン治療を行うときには通常 KLH などの免疫原性の高いものと融合させたものを抗原として用い、アジュバントとともに投与する (下図)。



この AngII ワクチンにより高血圧ラットでの血圧の有意な低下、血中 AngII 濃度の低下、マウスへの AngII の持続注入に対して心重量の低下・血管周囲の繊維化抑制が確認できている。

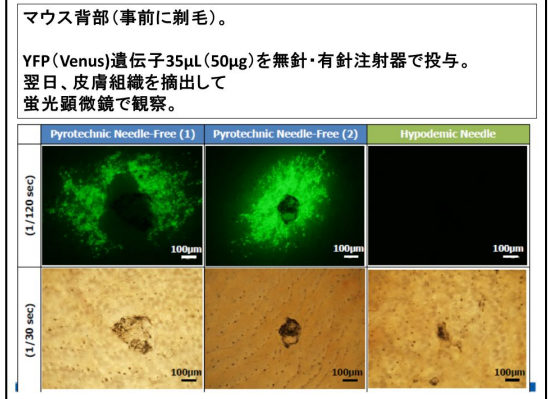
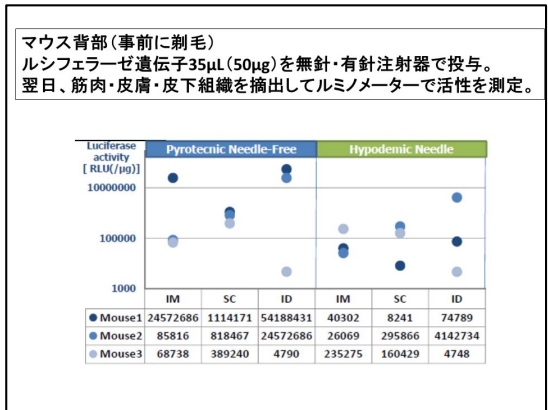


マイクロミニプタを用いた 2 kidney 1 clip Goldblatt 型腎性高血圧モデルでの検討を行った。プタの麻酔下で腹部を切開し左腎動脈を剥離露出し、腎動脈に血流量測定用のプローブを装着し、矩形波電磁血流量計を介して腎動脈血流量を測定した。腎動脈にシルバークリップを装着し、腎動脈血流量を確認しながらシルバークリップ装着前より約 90%減少するまで狭窄の程度を調整した。腎動脈血流量が減少したまま安定したところで血流量測定用のプローブを外し、切開部を縫合する。同時に頸動脈に送信機を埋め込み、1ヶ月間24時間血圧で観察したところ、高血圧の状態が維持できており、さらに日内変動の解析に必要な連続 256 心拍データが安定して取得することが分かった。また、マイクロミニプタはヒトと同じように血圧日内変動 (dipper型) もあることが観察できている。



デバイスに関しては、株式会社ダイセルが開発中のプロトタイプのカンパニオン製無針注射器は、火薬の量を調節することによりマウス・ラットなどの小動物においても皮下・皮下・筋肉などの標的箇所へ正確な薬液量を注入可能なデバイスである。それぞれ深さに到達できる設定の無針注射器を用いてマウス皮膚および筋肉に Luciferase 遺伝子を局所発現させたところ、皮下投与設定での皮膚で最も効率よく遺伝子を発現させることができた。同様の結果は GFP 遺伝子でも確認でき

た。今後は薬液量・濃度・火薬量を調整することで最適な無針注射器へと改良させていく。コンビネーションプロダクトとしての開発に向けて、安全性や操作性、消音化、軽量化などの観点で、ユーザーフレンドリーな医療機器を目指した商品設計を行うべく、将来的な実臨床に即した方向への改良を検討する。



## 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1件)

Nakagami H, Koriyama H, Morishita R. Therapeutic vaccines for hypertension and dyslipidemia. Int Heart J. 2014;55(2):96-100.

〔学会発表〕(計4件)

**中神 啓徳**「次世代バイオロジクスとしての高血圧ワクチン開発」第37回日本高血圧学会総会、2014.10.18、横浜<シンポジウム>

**Hironori Nakagami**「DNA Vaccine Technology as Novel Therapy for Hypertension」第20回日本遺伝子治療学会学術集会、2014.8.8、東京<ランチョンセミナー>

**中神 啓徳**「高血圧ワクチン開発に向けた基礎的検討」第3回臨床高血圧フォーラム、

2014.5.24、広島<シンポジウム>

**中神 啓徳**「高血圧ワクチンの歴史とその必要性」第21回日本未病システム学会学術総会、2014.11.1、大阪<ポスター>

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中神 啓徳 (NAKAGAMI HIRONORI)  
大阪大学・連合小児発達学研究所・  
寄附講座教授  
研究者番号：20325369

### (2) 研究分担者

樂木 宏実 (RAKUGI HIROMI)  
大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・  
教授  
研究者番号：20252679

苅尾 七臣 (KARIO KAZUOMI)  
自治医科大学・医学部・教授  
研究者番号：60285773

小林 英司 (KOBAYASHI EIJI)  
自治医科大学・先端医療技術開発センター・特任教授  
研究者番号：00245044