

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15440

研究課題名(和文)肺動脈性肺高血圧症に対するワクチン治療の開発

研究課題名(英文)Development of vaccine therapy for pulmonary arterial hypertension

研究代表者

荻原 義人(Ogihara, Yoshito)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70626572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺動脈性肺高血圧症(PAH)のキー因子の1つであるエンドセリン(ET)-1とインターロイキン(IL)-17Aの液性因子を標的としたそれぞれのペプチドワクチンを設計した。ワクチンにより、それぞれの液性因子に対する特異抗体が誘導されることを確認した。ET-1ワクチンを低酸素肺高血圧症(PH)ラットに、IL-17Aワクチンをsugen/hypoxia/normoxia PHラットにそれぞれ投与し、薬効評価を行った。しかしcontrol群と比較し、肺動脈圧、右室心筋肥大、肺動脈組織リモデリングのいずれにおいてもワクチン投与群で改善を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Endothelin-1 (ET-1) and interleukin (IL)-17A are one of the key mediators of pulmonary arterial hypertension. We developed the peptide vaccine targeting ET-1 or IL-17A. In rats, immunization with ET-1 or IL-17A vaccine successfully induced the production of anti-ET-1 antibody or anti-IL-17A antibody, respectively. We evaluated the vaccine efficacy in rat models of pulmonary hypertension. However, there was no significant differences in the pulmonary arterial pressure, the right ventricular thickness, and the degree of pulmonary vascular remodeling between the immunized rats (ET-1 or IL17-A) and the non-immunized rats.

研究分野：循環器内科学

キーワード：肺動脈性肺高血圧症 ワクチン エンドセリン-1 IL-17A

1. 研究開始当初の背景

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は血管攣縮、慢性炎症、血栓形成などにより、末梢肺動脈の増殖性狭窄や閉塞などの進行性の肺血管リモデリングをきたし、肺高血圧症を呈する疾患で、最終的には右心不全死に至る。最近になり、多くの薬剤が開発・臨床応用され、治療成績は向上した。しかし (1)これらの薬剤を併用しても未だ予後不良の疾患であること、(2)一部の製剤は、永久的に中心静脈カテーテルからの持続静注を必要とし、また比較的若年から発症するため、服薬を長期間・永続的に要するなど、その薬剤管理は患者にとり精神的負担が大きいこと、(3)PAHの既存薬はほとんど輸入製剤で、かつ極めて高額であり、我が国オリジナルの医療を展開する必要がある領域であるなど、新たな治療戦略の開発が期待される。

ワクチン療法は、感染症や腫瘍など異物を標的とした開発が盛んであるが、近年では、アルツハイマー病や脂質異常症の場合のように、自己抗原を標的としてワクチン開発も進められ、注目されている。本研究の分担者である中神、森下らも、アンジオテンシン や DPP-4 など自己抗原を標的としたペプチドおよび DNA ワクチンによる新しい治療法を開発し、高血圧や糖尿病などの動物モデルにおける治療効果を確認すると共に、その作用機序の解明および安全性の証明を行なっている (Koriyama, Nakagami, Morishita et al. Hypertension 2015 など)。PAH 領域にワクチン治療ができれば、さらなる治療効果の改善、患者の負担軽減、我が国における創薬活性化など、その効果は大きいものと期待できる。

2. 研究の目的

PAH 増悪因子の一つであるエンドセリ

ン(ET)-1、IL17A を標的としたワクチン療法の有用性ならびに安全性を PAH 動物モデルにより検討することにより、PAH に対する新しい治療法を開発を行うことを目的とする。

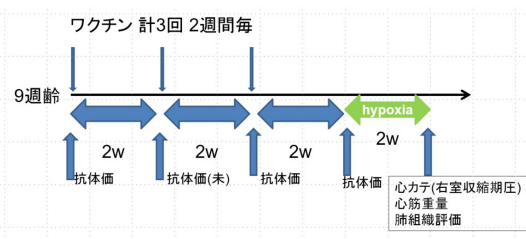
3. 研究の方法

(1) ET-1 ペプチドワクチン

whole ET-1 及び、ET-1 の中でより重要な生理活性を示すアミノ酸配列を選定し、ペプチド合成を行い、キャリア蛋白である KLH とのコンジュゲートワクチンを合成する。SD ラット 9 週齢・雄に ET-1 ワクチンをアジュバントとともに、試験開始 0 週目、2 週目、4 週目と計 3 回皮下注を行い、抗 ET-1 特異的抗体価上昇の確認を行う。

抗体価がほぼピークとなる試験開始 6 週間後より 2 週間の低酸素チャンバー(約 10% O₂)内で飼育することで、低酸素 PH 発症予防効果を確認する。イソフルレン吸入麻酔下で心カテーテルによる右室圧、

右室 / 左室 + 中隔心筋重量比(Fulton index)、肺細小動脈の筋性化率(肺動脈径 15~50µm と 50~100µm)を計測することにより、ワクチン無投与群(アジュバントのみ皮下注)との群間比較を行う(各群 6 匹ずつ)。

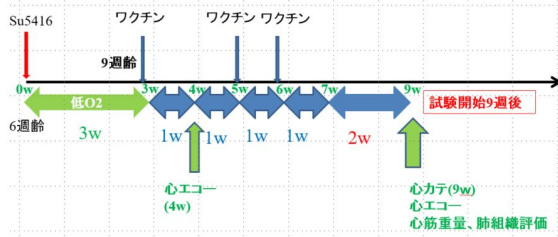


(2) IL-17A ペプチドワクチン

IL17-A エピトープ-KLH コンジュゲートワクチンを合成し、SD ラット 9 週齢・雄にワクチンをアジュバントとともに、試験開始 0 週目、2 週目、3 週目と計 3 回皮下注を行い、抗 ET-1 特異的抗体価上昇の確認を行う。

特異抗体の誘導確認後、sugen/hypoxia/normoxia ラットモデルを

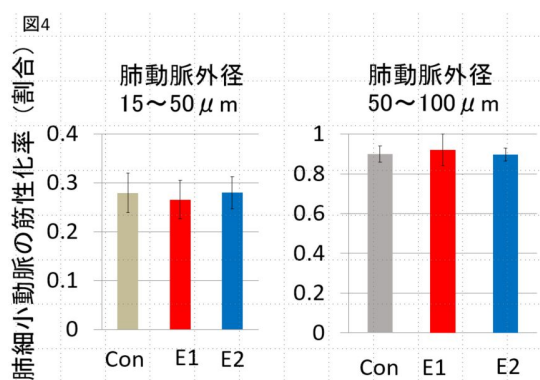
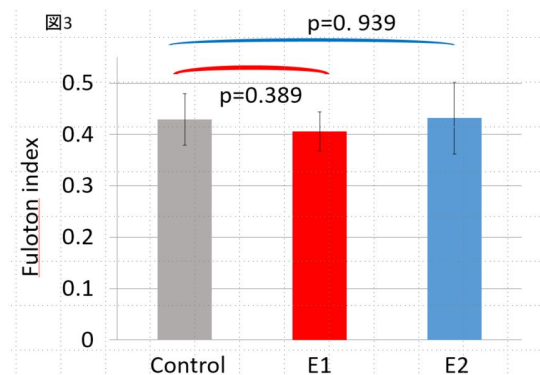
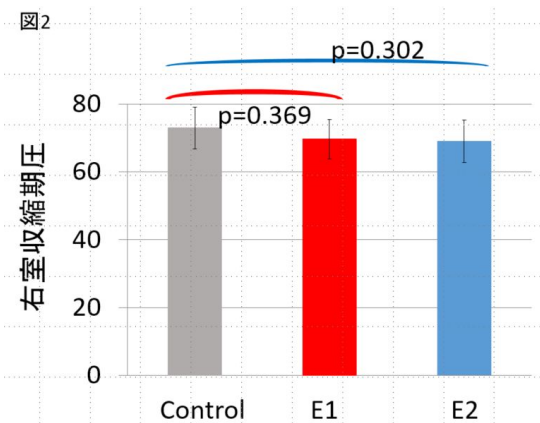
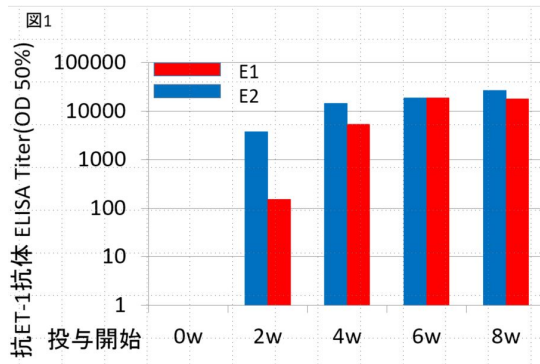
用いて PH 治療効果を確認する。SD ラット 6 週齢・雄に Su5416 投与し 3 週間低酸素飼育終了後、IL17A ワクチンをアジュバントとともに、試験開始 3 週目、5 週目、6 週目と計 3 回皮下注を行う。試験開始 9 週目にイソフルレン吸入麻酔下で心エコーによる右室壁肥厚、右室拡張末期径、TAPSE、下大静脈径、肺動脈波形、肺動脈加速血流時間/駆出時間(PAAT/ET)、心カテテルにより右室圧測定、右室/左室+中隔心筋重量比(Fulton index)、肺細小動脈の筋性化率、中膜肥厚度、閉塞率を計測する。ワクチン無投与群(アジュバントのみ皮下注)との群間比較を行う(各群 8 匹ずつ)。



4. 研究成果

(1) ET-1 ペプチドワクチン

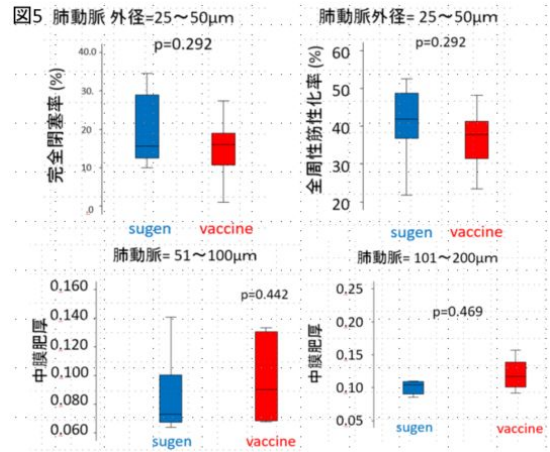
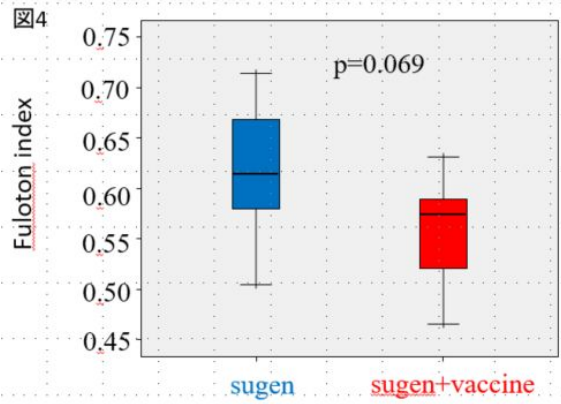
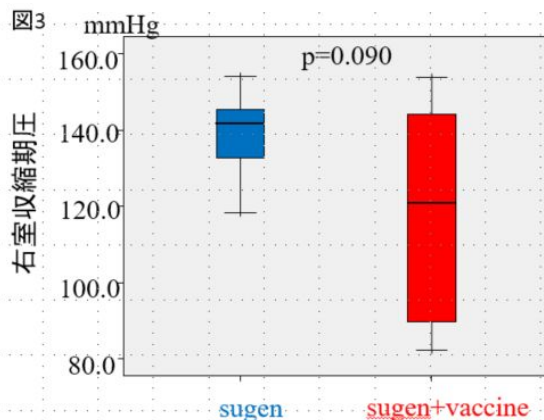
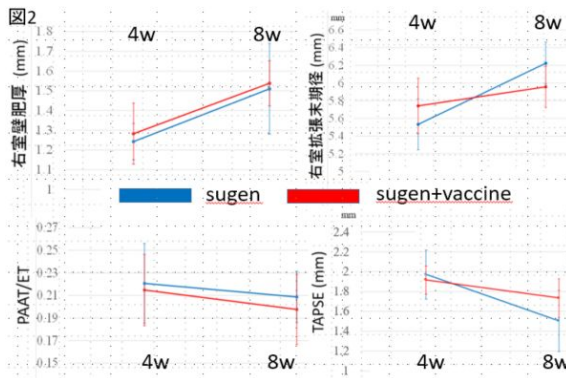
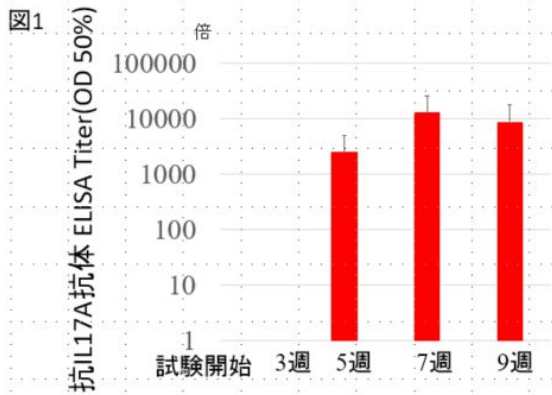
まず Whole ET-1 と KLH からなるペプチドワクチンにより ET-1 特異抗体が抗原量依存性に誘導されることを確認した。次に低酸素 PH モデルに投与を行ったが、薬剤効果を認めなかった。続いて ET-1 においてより強い生理活性を示す特定アミノ酸配列に対してのペプチドワクチンを 2 種類合成(それぞれ E1、E2)し、ET-1 特異抗体の誘導能を確認した後(図 1)、低酸素 PH モデルに対して投与を行った。しかし肺高血圧(図 2)、右室心筋肥大(図 3)、肺動脈リモデリング(図 4)のいずれも改善を認めなかった。薬効を認めなかった原因としてはワクチンにより誘導された抗体価では不十分、特異抗体による ET-1 中和作用の欠如、ET-1 阻害作用に対する代償性的 ET-1 血中濃度上昇が推察された。



(2) IL-17A ペプチドワクチン

IL-17A ペプチドワクチンを SD ラットに投与し特異抗体の誘導能があることを確認後(図 1)、sugen/hypoxia/normoxia ラットモデルを用いて PH 改善効果について検討した。試験開 4 週目に心エコーを行い(図

2)、いずれのラットも PH の状態であることを確認し、試験開始 9 週目に薬効評価を行った。肺高血圧(図 3)、右室心筋肥大(図 4)、右室サイズ・右室機能(図 2)、肺動脈リモデリング(図 5)においていずれも有意な改善を認めず、薬効を確認できなかった。原因としては このモデルにおいて IL17A は病態の主要な因子でない、ワクチンにより誘導された抗体価では IL17A の抑制が不十分である、抗体が誘導される時点で肺血管のリモデリングが高度に進行し効果が期待しにくい状態であったことが推察された。



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 0件)

[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

荻原 義人 (OGIHARA, Yoshito)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70626572

(2)研究分担者

伊藤 正明(ITO, Masaaki)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00223181

中神 啓徳 (NAKAGAMI, Hironori)

大阪大学・医学系研究科・寄付講座教授

研究者番号：20325369

森下 竜一 (MORISHITA, Ryuichi)

大阪大学・医学系研究科・寄付講座教授

研究者番号：40291439

土肥 薫 (Dohi, Kaoru)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50422837

山田 典一 (YAMADA, Norikazu)

三重大学・医学系研究科・リサーチアソ

シエイト

研究者番号：60303731