

## がん化を促進しない抗老化治療の開発

南野 徹

新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器内科学

## 【研究の背景】

肥満や糖尿病人口は増加の一途をたどっており、新たな治療法の開発は非常に重要である。以前我々は、肥満時の内臓脂肪では老化シグナル p53 の活性化を介して分泌型タンパクであるセマフォリン 3E (Sema3E) の発現が上昇すること<sup>1)</sup>、Sema3E はその特異的受容体である plexin D1 を発現するマクロファージに対して細胞遊走因子として作用することで、肥満時の脂肪炎症と全身のインスリン抵抗性を惹起することを明らかにした<sup>2)</sup>。近年、ワクチン療法は高血圧症やアルツハイマー病といった生活習慣病や慢性疾患において研究開発が進められているが<sup>3)</sup>、2 型糖尿病に対するワクチン療法の報告は殆どない。そこで今回我々はペプチド抗原を用いた抗セマフォリン 3E ワクチンを開発し、Sema3E-plexin D1 経路を抑制することで糖代謝異常を改善する、新たな糖尿病治療の創出を目的として研究を開始した。

## 【目 的】

本研究の目的は、セマフォリン 3E (Sema3E) に対するペプチドワクチン療法を確立し、新規糖尿病治療薬を創出することである。

## 【方 法】

- 1) セマフォリン 3E に対するワクチン療法の確立: C57BL/6 マウスに KLH エピトープを付加した Sema3E ペプチドをアジュバントとともに皮下投与し、抗体価を ELISA 法を用いて測定する。
- 2) ワクチン療法の糖代謝異常への効果の検証: C57BL/6 マウス高脂肪食 (HFD) を与え作製した肥満モデルマウスに Sema3E ワクチンを投与した後、糖負荷試験を行って糖代謝異常に対する効果を検証する。また内臓脂肪組織などを採取し、qRT-PCR 法や免疫染色法などを用いてワクチン療法の脂肪炎症に対する影響について解析する。
- 3) ワクチン療法の安全性の検証: ワクチン療法の内因性免疫機構に与える影響を検証するため、マウスの血液サンプルでの白血球分画や、ELISPOT assay による T リンパ球活性などを評価する。

## 【結 果】

食餌誘導性肥満モデルマウスに、アジュバントとともに Sema3E ペプチド抗原を接種したところ、Sema3E に対する抗体価の有意な上昇を認めた。またワクチン投与により摂餌量、体重、内臓脂肪重量には影響を与えないことが確認された。ワクチン療法による Sema3E の抑制が糖代謝異常に対して与える効果について検討するために、ワクチン投与を行った肥満モデルマウスにおいて糖負荷試験を行ったところ、ワクチン群においてブドウ糖負荷後の血糖値の上昇が有意に抑制された(図 1)。肥満に伴う糖代謝異常の病態基盤として内臓脂肪組織の慢性炎症が重要な役割を果たしていることから、ワクチン投与モデルにおける脂肪組織の炎症プロファイルについて解析を行ったところ、

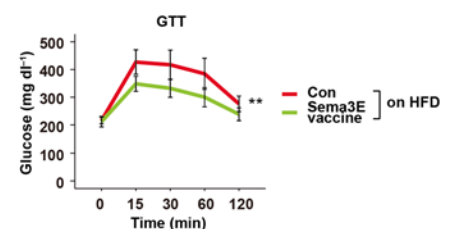


図1: Sema3Eワクチンの糖代謝異常への効果

内臓脂肪組織において *Adgre1*(Emr1) や *Itgam*(Cd11b)、*Itgax*(Cd11c) といった炎症マーカーや *Cdkn1a*(p21) といった老化マーカーの発現がワクチン群で有意に低下し、さらにワクチン群では *Plxnd1*(plexin D1) の発現も有意に低下していたことから (図 2)、Sema3E に対するワクチン療法が plexin D1 陽性マクロファージの脂肪組織への遊走を抑制していることが示唆された。またワクチン療法は白血球数や分画には影響を与えず、また KLH エピトープは T リンパ球を刺激し IL-4 や IFN- $\gamma$  を産生させるが Sema3E ペプチドそのものには T リンパ球を刺激する作用がないことが確認された。

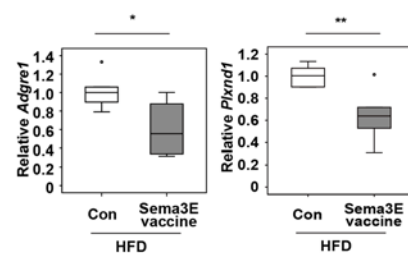


図2: Sema3Eワクチンの脂肪炎症への効果

### 【考察および臨床的意義・臨床への貢献度】

今回の我々の結果より、ペプチドワクチンを用いた抗セマフォリン 3E 療法が、糖尿病などの生活習慣病に対する次世代の治療法となる可能性が示唆された<sup>4)</sup>。近年、ワクチン療法は高血圧症やアルツハイマー病といった生活習慣病や慢性疾患において研究開発が進められている。糖尿病に関しては、その発症に免疫機序が想定されている一部の 1 型糖尿病においてワクチン療法が有効であるという複数の報告があるが、2 型糖尿病に対するワクチン療法の報告はほとんどない。過去の報告ではインターロイキン-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) に対するワクチン療法がインスリン分泌を促進することで 2 型糖尿病を改善したことが動物レベルで報告されているが、本研究では免疫応答そのものではなく、セマフォリン 3E を標的とすることで、全身の免疫応答には影響を与えない、より疾患特異的な治療になる可能性が高い。ワクチンによりセマフォリン 3E-プレキシニン D1 シグナル経路を抑制することで肥満モデルマウスにおいて脂肪組織の炎症細胞浸潤や糖代謝異常を改善できたことから、プロトコルのさらなる改善によりヒトの糖尿病治療へも応用できる可能性を十分に秘めている。2 型糖尿病患者は全世界で増加しており、増加する医療費も大きな社会問題の一つである。一度免疫を獲得すると長期間効果が持続し、従来の薬物療法よりも安価で安定した治療効果が得られる可能性を秘めたワクチン療法は、今後の糖尿病治療において大きな役割を果たすことが期待される。

### 【参考・引用文献】

1. Minamino T., Orimo M., Shimizu I., Kunieda T., Yokoyama M., Ito T., Nojima A., Nabetani A., Oike Y., Matsubara H., Ishikawa F. & Komuro I. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med.* 2009; 15: 1082-1087.
2. Shimizu I., Yoshida Y., Moriya J., Nojima A., Uemura A., Kobayashi Y. & Minamino T. Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell Metab.* 2013; 18: 491-504.
3. Koriyama H., Nakagami H., Nakagami F., Osako M. K., Kyutoku M., Shimamura M., Kurinami H., Katsuya T., Rakugi H. & Morishita R. Long-Term Reduction of High Blood Pressure by Angiotensin II DNA Vaccine in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension.* 2015; 66: 167-174.
4. Yoshida Y, Shimizu I, Hayashi Y, Ikegami R, Suda M, Katsuomi G, Wakasugi T, Nakao M, Nakagami H, Morishita R, Minamino T. Peptide vaccine for semaphorin3E ameliorates systemic glucose intolerance in mice with dietary obesity. *Sci Rep.* 2019; 9(1):3858.