

老化細胞除去ワクチンによる心血管疾患治療の開発

須田将吉

新潟大学医歯学総合病院 循環器内科

【研究の背景】

老化は様々な疾患のリスクである。近年、マウスモデルにおいて老化細胞を除去すると、循環器疾患の発症が抑制され、寿命が延びるという結果が報告された^{1,2)}。申請者らは細胞老化で特異的に発現が上昇する新しい分子としてGPNMBを同定した。GPNMB特異的に細胞除去できるマウスを作成し、GPNMB陽性老化細胞を除去すると、動脈硬化や糖尿病などの循環器疾患が改善することがわかった。そこで本研究では、GPNMBを標的としたワクチンを開発し、循環器疾患の治療ならびに寿命の延伸効果の検証を行うことを目的とした。

【目的】

GPNMB陽性の老化細胞を除去するワクチンを開発し、老齢マウスの老化による病態・表現系や、糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病の発症、進展が抑制できるかを検証する。

【方法】

1) GPNMB陽性細胞除去ワクチンの有用性の検討

動脈硬化や糖尿病モデルマウスに投与し、動脈硬化巣形成や耐糖能の改善効果について検証する。また老齢マウスへのワクチン投与を行ない、筋力測定やオープンフィールドテストなどの行動実験を行ない、フレイル改善効果も検証する。さらに老化モデルマウスであるZmpste24欠損マウスへのワクチン投与も行ない、寿命を測定する。

2) ヒトSAGP陽性細胞除去ワクチンの開発

鳥取大学との共同研究により完全ヒト抗体産生マウスを用い、ヒトGPNMB陽性細胞除去ワクチンを確立する。ワクチン投与により産生された抗体のうち、実際にGPNMB陽性細胞を除去することができる抗体を抗体依存性細胞傷害(Antibody dependent cellular cytotoxicity; ADCC)アッセイで確認する。

【結果】

1) GPNMB陽性細胞除去ワクチンの有用性の検討

GPNMBの細胞外ドメインに相当する部位のペプチドにKLHを結合させた抗原を用い、脂質アジュバントを用いてマウスに免疫を行なった。ワクチン投与後4週間で抗体価が上昇し、それに伴い、高脂肪食負荷による肥満マウスの脂肪組織で増加したGPNMBの発現がワクチン投与群で低下することを確認した。それに伴い、脂肪組織のSA-βGalやp16などの老化マーカーは低下し、グルコース負荷試験やインスリン負荷試験で耐糖能、インスリン抵抗性の改善が認められた。この作用はNK細胞の中和抗体でキャンセルされたことから、ワクチンはADCC活性を介して老化細胞を除去しているものと考えられた。また、動脈硬化モデルマウスであるApoE欠損マウスにも同様にワクチン接種を行ったところ、動脈硬化巣が減少した。生体イメージングシステム(IVIS)で大動脈弓部のGPNMBシグナルを確認するとワクチン接種によりGPNMBの発現が減弱していた。さらにRNAseqで遺伝子発現を比較すると、ワクチン投与群ではコントロールワ

クチン投与群に比較して細胞老化関連分泌形質 Senescence-associated secretory phenotype (SASP) の発現の低下が認められた。さらに高齢マウスへワクチン接種を行なったところ、加齢による運動量や歩行速度の改善を認め、早老症モデルマウス (Zmpste24 欠損マウス) ではワクチン接種群で有意に寿命を延長させた。

2) ヒト GPNMB 陽性細胞除去ワクチンの開発

完全ヒト抗体産生マウスにヒト GPNMB ペプチドを用いて免疫反応を誘導した。このマウスから得られた抗体産生細胞のハイブリドーマを作製し、モノクローナル抗体を生成した。免疫染色と FACS を用いて GPNMB を認識する抗体をスクリーニングし、数種類の有用な抗体をえることができた。しかし得られた抗体を用いて、GPNMB 陽性細胞を除去することができる ADCC 活性を調べたが、いずれの抗体も活性を認めなかった。

【考察】

マウスに対する GPNMB 陽性の老化細胞を ADCC により除去する抗体を産生するワクチン療法を確立した。このワクチン療法は肥満、糖尿病モデルマウスや動脈硬化モデルマウスなど生活習慣病に有用であり、さらには高齢マウスの運動能低下を抑制したことから、加齢や加齢関連疾患の健康寿命を改善させることが示唆された。また、早老症モデルマウスにおいては寿命延長効果も認めており、これまでの老化細胞除去治療と同様の結果を得ることができた。通常の高齢マウスの寿命については研究期間の都合上解析できておらず、今後の検討課題と考える。既存の老化細胞除去治療は一過性のものであり、繰り返しの治療が必要になるが、ワクチン療法は 1 回の投与で数ヶ月効果が持続するため、慢性疾患である老化の治療には有用であると考えられる。しかしワクチンによる副反応や今回検討していない副作用など持続時間が長いゆえに今後の検討が必要である。

ヒト化マウスを用いてヒト GPNMB 抗体の樹立も行ない、いくつかの GPNMB をよく認識する抗体を得ることができた。しかし免疫方法などが異なるためか、ADCC 活性を有する抗体が得られなかった。再度 ADCC 活性を有する抗体が得られるように免疫方法などを検討しつつ、現在得られている抗体の GPNMB の認識は良いので、薬剤を結合させる、標識を結合させるなど応用した抗体製剤の作成についても検討していきたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々が樹立した GPNMB ワクチンは動脈硬化や糖尿病などの加齢関連疾患や老年症候群の治療として有用である可能性を示すことができた。GPNMB はこれらの疾患だけではなく、アルツハイマー病やパーキンソン病などでも高発現することが知られており、包括的な治療薬になりうると思われる。

しかし、マウスとヒトという種の問題があり、同様のアジュバントはヒトには用いられておらず、通常ヒトに用いられているワクチン製剤がマウスと同様な効果を示す GPNMB 除去抗体が得られるかどうかはわからなかったため、抗ヒト GPNMB 抗体の樹立を行なった。今回の検討では得られた抗体でヒト GPNMB を ADCC 活性により除去する作用を有するものは得られなかったが、薬剤を抗体に合成するなど改善の余地があると考えられる。同時期に CD153 に対するワクチン治療がマウスの老化 T 細胞を除去するという報告もされており、本研究と合わせて抗老化ワクチンの概念を提唱した意義は大きいと考える^{3,4)}。

【参考・引用文献】

1. Baker DJ, Childs BG, Durik M, et al. Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature*. 2016;530(7589):184-9.
2. Baker DJ, Wijshake T, Tchkonia T, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*. 2011;479(7372):232-6.
3. Yoshida S, Nakagami H, Hayashi H, et al. The CD153 vaccine is a senotherapeutic option for preventing the accumulation of senescent T cells in mice. *Nat Commun*. 2020;11(1):2482.
4. Suda M, Shimizu I, Katsuomi G, et al. Senolytic vaccination improves normal and pathological age-related phenotypes and increases lifespan in progeroid mice. *Nat Aging*. 2021;1:1117-1126.