

報道機関 各位

熊本大学

脂質異常症および関連疾患に有効な  
ワクチン治療薬を開発  
—新たな治療オプションとして期待—

（ポイント）

- 脂質異常症<sup>注1)</sup> の新規治療標的として注目されているタンパク質「ANGPTL3」<sup>注2)</sup> に対するペプチドワクチン<sup>注3)</sup> 治療薬を開発しました。
- 同治療薬は、過食や肥満に伴う脂質異常症のマウスモデルに対して、脂質異常症および脂肪肝の改善効果を示しました。
- 同治療薬は、遺伝性疾患である家族性高コレステロール血症<sup>注4)</sup> のマウスモデルに対して、脂質異常症および動脈硬化症の改善効果を示しました。
- 同治療薬は、脂質異常症および関連疾患に対するより安価な新規治療オプションの一つとして期待されます。

（概要説明）

脂質異常症は、生命予後や健康長寿を脅かす動脈硬化性疾患の発症・進展の主要な要因です。脂質異常症の治療の原則として、動脈硬化症の発症や再発予防の観点から、血中LDLコレステロール<sup>注5)</sup> 値をできる限り低下させることの重要性が多くの臨床研究により示されています。そのためにスタチン系薬剤（HMG-CoA還元酵素阻害薬）が一般的に広く使用され、その有効性も確立しています。重篤な症例では、血中LDLコレステロール値をできる限り低下させるために、スタチン系薬剤の増量や他の薬剤の追加投与による治療（多剤併用療法）が行われています。しかし、これらの治療では、有害な症状、徴候、ならびに検査値異常により、治療継続困難となる患者さんがいるため、さらに新たな治療薬の開発が期待されています。また近年、高中性脂肪血症も動脈硬化発症を促進することが示されており、ポリファーマシー<sup>注6)</sup> への対応の観点から、血中LDLコレステロール値と中性脂肪値をともに強力に低下できる薬剤の開発が期待されています。

このような中、これまでの研究から、「ANGPTL3」の機能欠失型の遺伝子変異をもつヒトが、

変異をもたないヒトに比べ、血中LDLコレステロール値及び中性脂肪値がともに低下しており、心血管疾患の発症リスクが有意に低いことが見出されました。このため、脂質異常症を増悪させるタンパク質としてANGPTL3が認識され、その機能や産生を抑える脂質異常症治療薬の開発が進んでいます。既にANGPTL3を標的とした抗体医薬、核酸医薬等のバイオ医薬品<sup>注7)</sup>が開発され、臨床治験において遺伝性疾患であり重篤な脂質異常症を発症する家族性高コレステロール血症に対しても有効性を示しており、実臨床の現場での早期の実用化が期待されています。しかし、一般的にバイオ医薬品は薬価が高いため、より安価な治療法の実用化が求められています。

熊本大学大学院生命科学研究部の尾池雄一教授らの研究グループは、ANGPTL ファミリーの同定から、それらの機能や病態における意義の解明に関する研究を行ってきました。そして、本研究では、ANGPTL3 に対するペプチドワクチン治療法の実用化に成功しました。マウスモデルを用いた実験により、(1) 過食や肥満に伴う脂質異常症および脂肪肝の改善効果、(2) 家族性高コレステロール血症の脂質異常症および動脈硬化の改善効果を確認しました。

ペプチドワクチンは、バイオ医薬品と比較して一般的に安価に製造されるため、医療経済の面で優れており、今後、脂質異常症および動脈硬化症や脂肪肝などの脂質異常症関連疾患に対する新規治療オプションの一つとして期待されます。

本研究成果は、大阪大学大学院医学系研究科の森下竜一寄附講座教授、中神啓徳寄附講座教授との共同研究で行われました。また、熊本大学健康長寿代謝制御センター研究助成、文部科学省科学研究費補助金の支援を受けたもので、米国東部時間 2021 年 11 月 16 日午前 11 時（日本時間令和 3 年 11 月 17 日午前 1 時）に、*Cell Reports Medicine* オンライン版に掲載されます。

## (説明)

### [背景]

動脈硬化性疾患の代表疾患である心血管疾患は世界の死者数の 32%を占めており、様々な治療法が開発されている現在でも、発症予防、進展予防、再発予防の観点から、疾患の危険因子である脂質異常症に対する厳格な治療が重要です。非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD)<sup>注8)</sup>は、世界的に増加しており、日本での有病率が 9~30%と高く、中東・南米などの途上国では 30%を超える有病率が報告されています。脂肪肝のうち一部は肝硬変や肝臓がんに至ることから早期治療が重要であり、NAFLD の発症・進展の主要な要因である脂質異常症への厳格な治療の重要性が注目されています。また、脂質異常症の中でも、全世界で約 3,400 万人が罹患する家族性高コレステロール血症は、現在行われている高用量スタチン系薬剤や PCSK9 阻害薬等を用いた多剤併用療法にも治療抵抗性を呈することから、新たな治療薬の開発が期待されています。

近年、脂質異常症の新たな治療標的として ANGPTL3 が着目されています。ANGPTL3 は血管新生作用に加え、Lipoprotein lipase (LPL) <sup>注9)</sup> の活性阻害作用で血清中性脂肪を上昇させる作用が知られていました。近年の研究から、ANGPTL3 遺伝子の機能欠失変異をもつヒトでは、変異をもたないヒトに比べ、血中 LDL コレステロール値の低下、血中中性脂肪値の低下が認められ、生涯に渡り有害な症状、徴候、検査値異常は示さず、さらに心血管疾患の発症が有意に低いことが示されました。このことから、ANGPTL3 を標的とした脂質異常症治療薬の開発が世界的に行われています。現在、抗 ANGPTL3 抗体や核酸医薬を用いて ANGPTL3 の産生や機能を抑制する薬剤が開発され、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確認されており、既存の治療薬と異なる新たな作用をもつ治療薬として期待されています。しかし、現在開発中の治療薬はいずれもバイオ医薬品であり、薬価は高く、全世界における臨床応用を考えた際、皆保険制度のない国々や貧困層などへの普及には大きな障害となります。治療有効性を保持しながら広く治療を普及させるためには、より安価な治療薬の開発が求められています。

#### [研究の成果]

本研究では、ANGPTL3 ペプチドワクチン開発に向け、ANGPTL3 のアミノ酸配列から短いアミノ酸鎖(ペプチド)配列を3か所 (E1、E2、E3) 選択し、各々を標的とするペプチドワクチンをデザインしました (図1)。

次に、3つの候補ペプチドから作成したワクチンを過食/肥満関連性の脂質異常症および脂肪肝を示すモデルマウス (ob/obマウス) に実施したところ、E3を用いたワクチンが最も脂質異常症および脂肪肝に対して改善効果を示しました (図2)。また、E3を用いたワクチンを家族性高コレステロール血症マウスモデル (*ApoE<sup>sh1</sup>*マウス) に実施したところ、脂質異常症および動脈硬化に対して改善効果を認めました (図3)。

なお、本研究で開発した ANGPTL3 ペプチドワクチン治療の抗体誘導は、6か月程度持続することが確認されました (図4)。また、上記の各解析において、ANGPTL3 ペプチドワクチン治療群マウスに大きな障害は認められず、同治療法が副作用なく安全であることを確認しました。

以上のことから、マウスへの ANGPTL3 ペプチドワクチン接種により液性免疫を誘導し、ANGPTL3 機能抑制中和抗体が産生されることで、肥満に伴う脂質異常症および脂肪肝の改善並びに家族性高コレステロール血症における脂質異常症および動脈硬化の改善が示されることが明らかになりました (図5)。

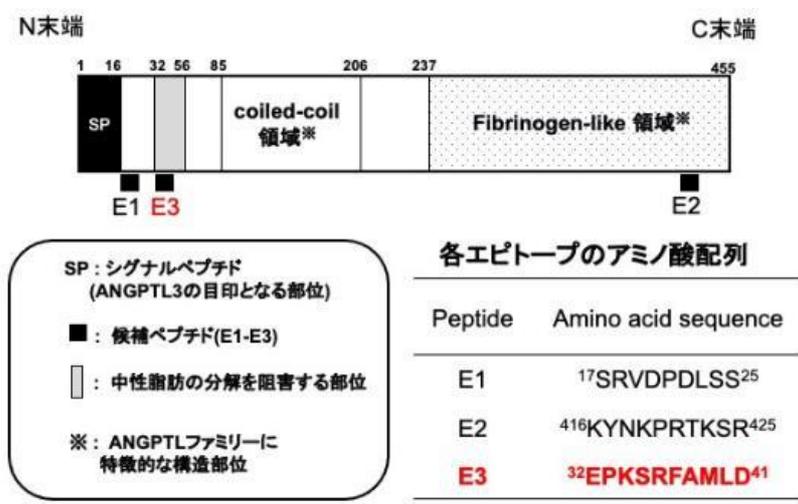


図1. ANGPTL3を標的としたペプチドワクチンのデザイン  
 上段は、ANGPTL3の構造模式図における3つの候補ペプチド(E1, E2, E3)の位置を示しています。下段右は、候補ペプチド(E1, E2, E3)の amino 酸配列をそれぞれ示します。赤文字で示すE3の配列はヒトとマウスでは100%一致しています。

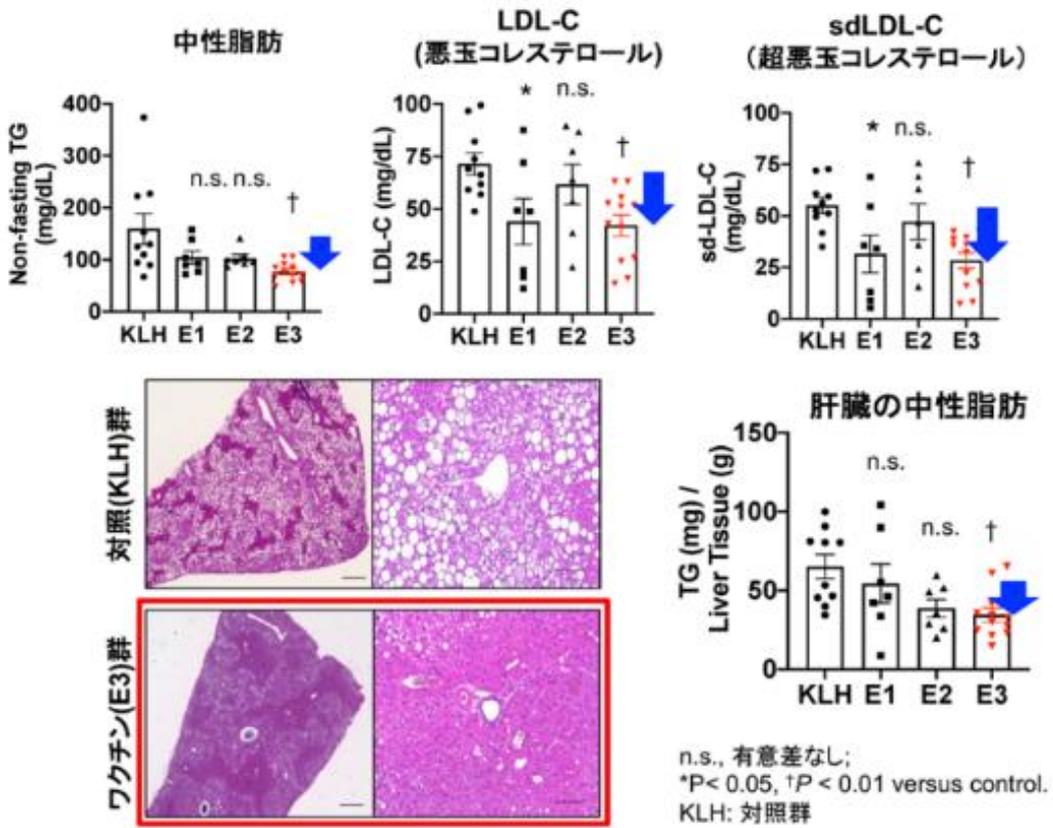


図2. 肥満症マウスモデル (*ob/ob*マウス) の脂質異常症および脂肪肝に対するANGPTL3ペプチドワクチン治療効果

上段：左から *ob/ob*マウスの血液中の中性脂肪、LDLコレステロール(悪玉)、small dense LDLコレステロール(超悪玉)<sup>注10</sup>の各濃度を示しています。ANGPTL3のペプチド配列を含まないキャリアタンパク質(KLH)のみの対照群と比較して、キャリアタンパク質(KLH)にANGPTL3のペプチド配列(E3)を付加したANGPTL3ペプチドワクチン群(E3)では、上段に示す各血中脂質濃度が減少しています。下段：左は *ob/ob*マウスの肝臓組織を示しています。写真に示すよう、KLHのみの対照群では肥満のため肝臓に脂質が蓄積し脂肪肝(肝臓組織が白く抜けて見えます)となりますが、ANGPTL3ペプチドワクチン治療によって脂肪肝が改善しています(白く抜けて見える領域が減少しています)。右は肝臓に含有する中性脂肪の蓄積量を定量化したグラフです。KLHのみの対照群と比較してANGPTL3ペプチドワクチン群(E3)は肝臓に含有する中性脂肪蓄積量が低下しています。

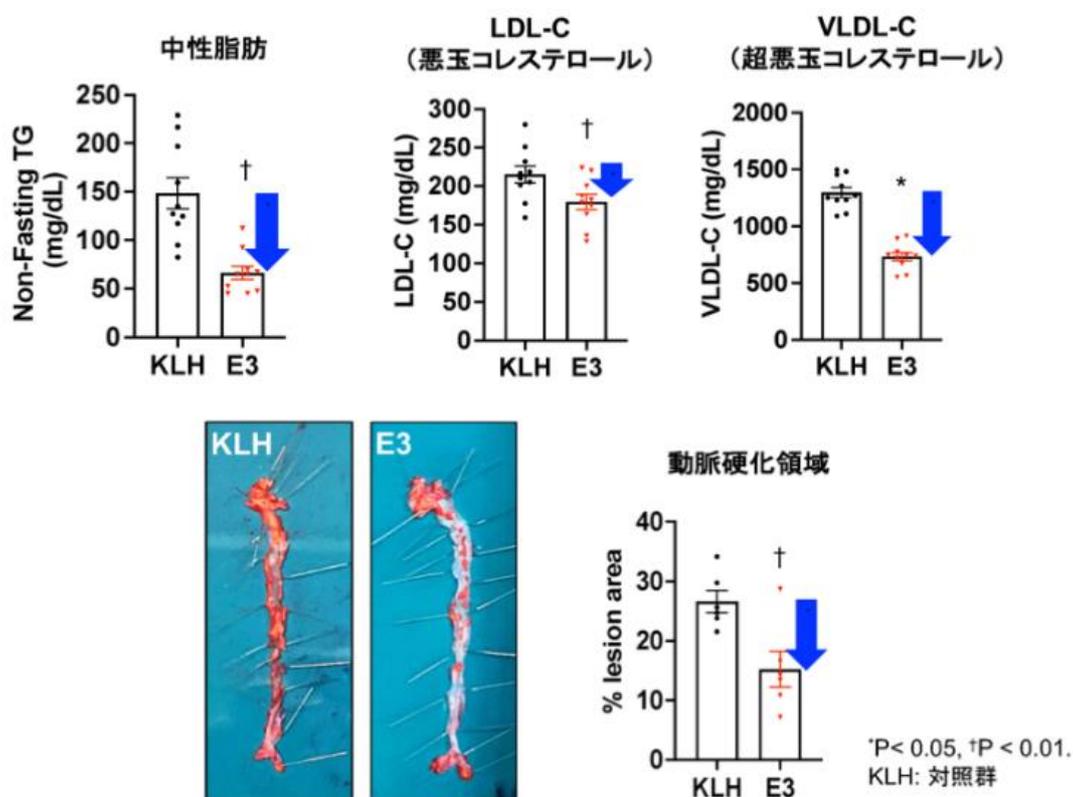


図3. 家族性高コレステロール血症マウスモデル (*ApoE<sup>sh1</sup>*マウス)の脂質異常症および動脈硬化に対するANGPTL3ペプチドワクチン治療効果

上段：左から *ApoE<sup>sh1</sup>*マウスの血液中の中性脂肪、LDLコレステロール(悪玉)、VLDLコレステロール(超悪玉)<sup>注11</sup>の各濃度を示しています。ANGPTL3のペプチド配列を含まないキャリアタンパク質(KLH)のみの対照群と比較して、キャリアタンパク質(KLH)にANGPTL3のペプチド配列(E3)を付加したANGPTL3ペプチドワクチン群(E3)では、上段に示す各血中脂質濃度が減少しています。

下段：左の写真に示すように、KLHのみの対照群では動脈硬化が進行し血管に脂質が蓄

積（脂質は赤く染色されています）していますが、ANGPTL3ペプチドワクチン治療によって動脈硬化が軽減しています（赤く染色される領域が減少しています）。右は動脈硬化の程度を定量化したグラフです。ANGPTL3ペプチドワクチン治療群 (E3) は動脈硬化の進展が軽減しています。

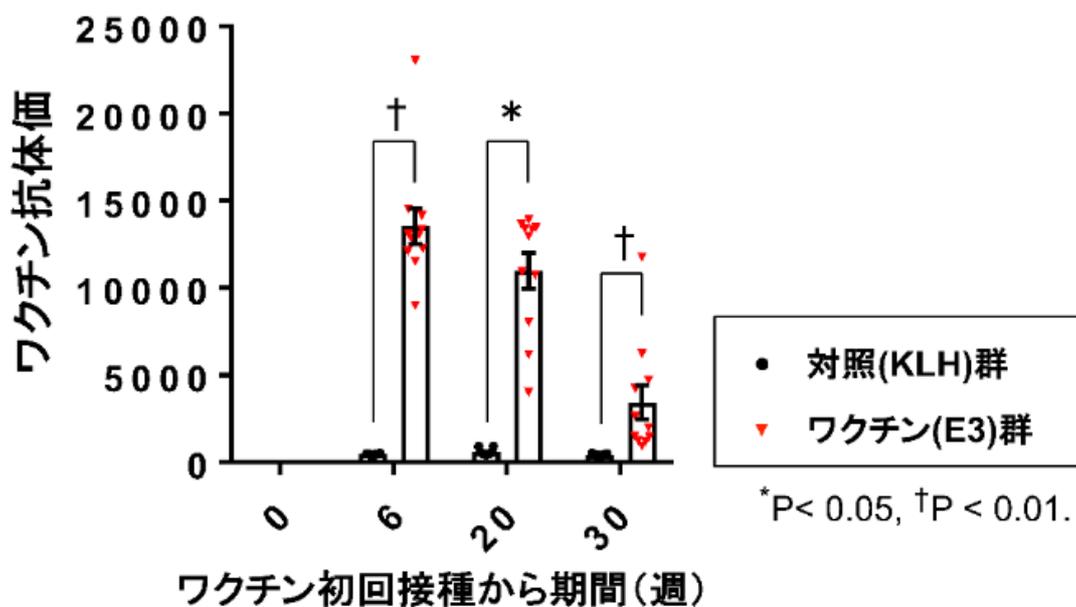


図4. ANGPTL3ペプチドワクチン接種マウスにおける交代価の推移

縦軸はワクチン抗体価（ワクチンによって抗体が誘導される強さ）、横軸はワクチン初回接種からの経過期間（週）を示しています。KLHの接種の対照群はいずれの時期においてもワクチン抗体価が上昇しない一方、ANGPTL3ペプチドワクチン治療群 (E3) は、抗体価が有意に上昇しその上昇は、ワクチン初回接種から30週間後も維持されていることが確認できました。

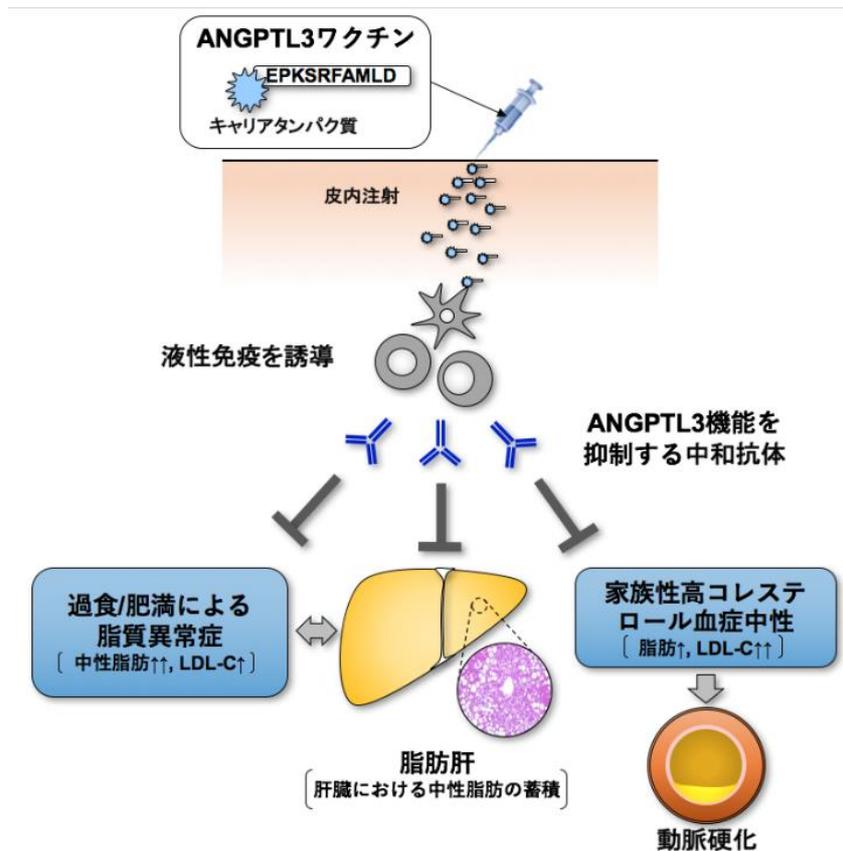


図5. ANGPTL3ペプチドワクチン治療の概略図

マウスへのANGPTL3ペプチドワクチン(E3:  $^{32}$ EPKSRFAMLD $^{41}$ )接種により液性免疫が誘導され、ANGPTL3機能抑制中和抗体が産生され、肥満に伴う脂質異常症および脂肪肝の改善、家族性高コレステロール血症の脂質異常症および動脈硬化の改善が示されました。

[展開]

本研究では、脂質異常症の新規治療薬の標的として注目され、抗体医薬、核酸医薬等のバイオ医薬品開発が進むANGPTL3を標的としたワクチン治療薬を脂質異常症および関連疾患モデルマウスに接種し、脂質異常症、脂肪肝、動脈硬化への有効性を示しました。本ワクチンに用いたANGPTL3のペプチド配列はマウスとヒトで100%一致していることから、本研究で開発したANGPTL3ペプチドワクチンのヒトにおける有効性が強く示唆され、今後、脂質異常症および関連疾患に対する新たな治療オプションの一つとして大きく期待されます。一般的にワクチン治療薬はバイオ医薬品と比較して安価に製造され、医療経済の面で優れていると考えられることから、経済的に恵まれない地域も含め、世界中のより多くの方への臨床応用が期待されます。今後は、このワクチンの臨床応用を目指し、有効性と安全性に関する前臨床研究による検証と、より効果を長期化させるための改良に取り組む予定です。

[用語解説]

注 1) 脂質異常症

脂質異常症は、血液中の脂質の値が基準値から外れた状態であり、一般的に過食や運動不足などの生活習慣の変容によって生じることが多いです。その他、特定の遺伝子変異が原因で遺伝的に脂質異常症を有する場合も見られます。

注 2) ANGPTL3 (アンジオポエチン様因子 3 )

アンジオポエチン様因子とは、TIE2 受容体のリガンドであるアンジオポエチンに構造上類似するものの TIE2 受容体に結合できない分泌型タンパク質として同定され、現在 8 種類存在します。ANGPTL3 はその 1 つです。様々な研究から ANGPTL3 の産生や機能を抑えることで、脂質異常症が改善することが報告されており、ANGPTL3 を標的とした脂質異常症治療薬の開発が世界的に行われています。

注 3) ペプチドワクチン

ワクチンとは、主に病原体など病気の原因に拮抗する免疫を誘導するための医薬品です。ペプチドワクチンは、病原性を示すタンパク質を構成するアミノ酸の一部 (ペプチド) とキャリアタンパク質を結合させたものから構成されます。本研究で開発した ANGPTL3 ペプチドワクチンでは、KLH (キーホールリンペットヘモシアニン) というキャリアタンパク質と脂質異常症の治療標的となる ANGPTL3 のペプチドから構成され、液性免疫を誘導し ANGPTL3 機能を阻害する中和抗体の産生を誘導します (図 6)。

### ANGPTL3ワクチンによる液性免疫の誘導

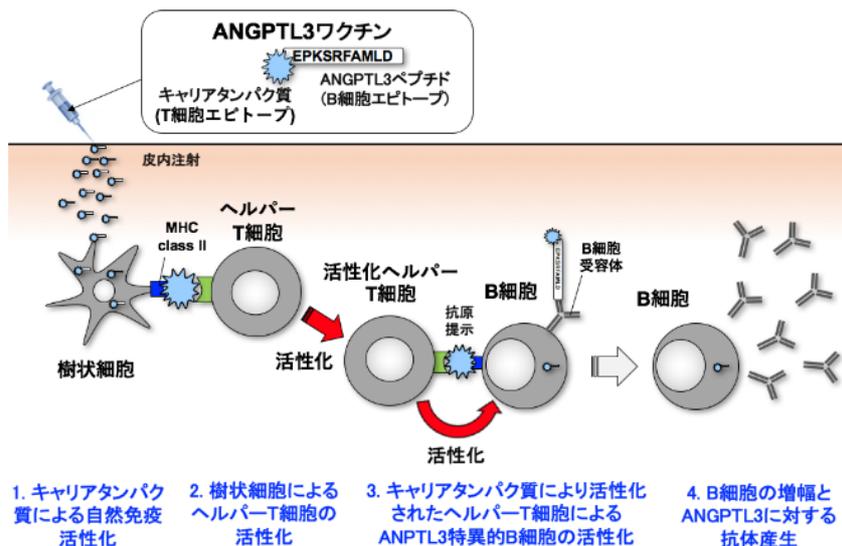


図6. ANGPTL3ペプチドワクチンによる液性免疫の誘導

#### 注 4) 家族性高コレステロール血症

脂質代謝に関連する遺伝子の変異によって生じる遺伝子疾患であり、生後早い時期から血液中のコレステロール高値を呈します。そのため、早期から積極的に有効な治療をしなければ、動脈硬化が進み、心筋梗塞や脳梗塞などの病気を引き起こします。既存の治療薬を組み合わせても十分な治療効果が得られない方や、既存の治療薬に不耐性の方も存在し、新規治療薬の開発が望まれています。

#### 注 5) LDL コレステロール (low density lipoprotein cholesterol : LDL-C)

コレステロールは、細胞の膜や、体の機能を調整する重要なタンパク質です。LDL-C は肝臓で作られたコレステロールを全身へ運ぶ役割を担っていますが、増えすぎると動脈硬化を生じ心筋梗塞や脳梗塞の発症リスクを高めることから悪玉コレステロールともいわれています。

#### 注 6) ポリファーマシー

ポリファーマシーとは、必要以上に多くの薬が処方された状態をいいます。高齢になるほど罹患する病気が増えて、薬の数が多くなる傾向にあります。多くの薬を内服することにより有害な副作用を来しやすくなります。また、医療経済の負担増加にもつながるため、ポリファーマシーの解消が求められています。

#### 注 7) バイオ医薬品

バイオ医薬品とは、生物や生物のもつ機能をもとにした技術 (バイオテクノロジー) によって作られた医薬品の総称です。代表例としては、「抗体医薬」、「核酸医薬」があります。人工的に作り出した抗体を薬にしたものを「抗体医薬」、病気の原因となるタンパク質の元となる RNA や DNA の働きを抑制する物質を用いたものを「核酸医薬」といいます。

#### 注 8) 非アルコール性脂肪肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD)

肝臓に脂質が蓄積した状態を脂肪肝といいます。脂肪肝の人の一部は、肝炎を起こし、肝硬変に至ります。飲酒量が一定基準 (エタノール換算で男性 30g/日、女性 20g/日) 以下で、脂肪肝から肝硬変に進行した状態までを含む一連の肝臓病を非アルコール性脂肪肝疾患といいます。

#### 注 9) Lipoprotein lipase (LPL)

中性脂肪を分解する酵素です。体の中では、脂肪細胞や毛細血管の内側にある細胞に多く存在します。

注 10) small dense LDL コレステロール (sd-LDL-C)

LDL-C の中でも、特に小型のものは small dense LDL-C と定義されています。血管の壁に取り込まれやすく、酸化しやすいことから、動脈硬化を引き起こす作用が強く、超悪玉コレステロールと呼ばれています。

注 11) VLDL コレステロール (very low-density lipoprotein cholesterol : VLD-C)

VLDL-C も LDL-C と同じように、肝臓から作られたコレステロールを全身に運ぶ作用があります。LDL-C よりも動脈硬化を進める作用が強いことから、small dense LDL-C と同じように超悪玉コレステロールと呼ばれています。

### (論文情報)

論文名 : Vaccine targeting ANGPTL3 ameliorates dyslipidemia and associated diseases in mouse models of obese dyslipidemia and familial hypercholesterolemia

著者 : Hirotaka Fukami<sup>†</sup>, Jun Morinaga<sup>†</sup>, Hironori Nakagami, Hiroki Hayashi, Yusuke Okadome, Eiji Matsunaga Tsuyoshi Kadomatsu, Haruki Horiguchi, Michio Sato, Taichi Sugizaki, Takashige Kuwabara, Keishi Miyata, Masashi Mukoyama, Ryuichi Morishita, Yuichi Oike\* (<sup>†</sup>co-first authors, \*corresponding author)

掲載誌 : Cell Reports Medicine

#### 【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部

分子遺伝学講座

担当 : 教授 尾池 雄一

電話 : 096-373-5140

e-mail : [oike@gpo.kumamoto-u.ac.jp](mailto:oike@gpo.kumamoto-u.ac.jp)