

## 2. アルツハイマー病のワクチン療法 updated

田平 武\*・原 英夫\*\*

1999 年米国エラン社の Dale Schenk らは、ヒト型 APP 遺伝子を強発現し、加齢とともに脳の老人斑を生じる PD-APP マウスを合成 A $\beta$ 1-42 で免疫したところ、老人斑の形成が予防できることを見だし、ワクチン療法と名づけた。そのメカニズムは、Fc 受容体を介したミクログリアの貪食であるとの仮説を提唱した。これに対し、引き抜き仮説、 $\beta$  アミロイド凝集阻害仮説が提唱されている。いずれにせよ、ワクチン接種を受けたマウスは、学習機能が回復したので、ヒトでの治験が行われた。

ヒトでの治験は合成 A $\beta$  1-42 にアジュバント QS21 を加えたもの (AN-1792) が用いられ、米国・英国において中等症のアルツハイマー病患者で 6 カ月間の phase I study が行われた。その結果、特に副作用がみられなかったため、米国、ヨーロッパにおいて、軽症～中等症の患者で phase II study が行われた。しかし、1～2 回の接種後、副作用としての髄膜炎が 298 人中 18 人に起こったので、その後の接種は中止された。

英国の Nicoll らは、AN-1792 接種後髄膜炎を起こし、1 年後に死亡した症例の脳を調べ、老人斑が明らかに消えていると思われる所見を見いだした。スイスの Nitsch らは、AN-1792 接種後 1 年間患者の経過を観察し、抗体が上昇した症例では認知機能の低下がわずかであったが、上昇しなかった症例では通常の低下が起こったと報告した。そこで、安全なワクチン開発が世界競争となった。

われわれは、安全な経口ワクチンを世界に先がけて開発した。これは、アデノアソシエートウイルスベクターにシグナルペプチドと A $\beta$ 1-43 あるいは A $\beta$  1-21 cDNA を組み込んだもので、Tg 2576 マウスに 1 回経口投与した。ワクチン接種マウスでは老人斑アミロイドの沈着が有意に減少し、脳炎などの副作用はみられなかった。この方法はアルツハイマー病の予防・治療法としてヒトに応用できると期待される。

### Vaccination Therapy for Alzheimer's disease, updated

TAKESHI TABIRA National Institute for Longevity Sciences



\*たばら・たけし：国立療養所中部病院長寿医療研究センター長。昭和45年九州大学医学部卒業。昭和52年同神経内科助手。昭和57年同講師。昭和58年国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第6部部长。平成13年現職。主研究領域／アルツハイマー病・多発性硬化症・神経免疫。  
\*\*はら・ひでお：国立療養所中部病院長寿医療研究センター（併任）。

#### Key words

アルツハイマー病  
 $\beta$  アミロイド  
ワクチン  
アデノ随伴ウイルス  
ベクター

## 1. アルツハイマー病のアミロイド仮説

アルツハイマー病(AD)は記憶障害で始まり、徐々に痴呆が進行する大脳の変性疾患で、主として高齢者にみられる。現在、わが国においては65歳以上の高齢者の7%が痴呆を有し、その60%はADが原因とされる。混合型痴呆も加えるとその数はさらに増加し、100万人以上の患者がいると推定されている。これにかかる医療費、介護費用、収容施設などの社会的問題に加え、最も人間的な部分が失われるために最もかかりたくない病気とされ、一日も早い予防・治療法の開発が望まれている。

ADの脳には1.神経原線維変化、2.老人斑、3.神経細胞死といった3つの特徴ある病理所見がみられる。これらを手がかりに研究が進められてきた結果、老人斑がADの発症機序において中核的病理所見であると広く考えられるようになった(表)。老人斑は $\beta$ アミロイド( $A\beta$ )が沈着して形成され、 $\beta$ アミロイドはアミロイド前駆体蛋白(APP)が凝集してできたものである(図1)。したがって、 $A\beta$ の切り出し、凝集、沈着、その毒性による神経突起の変性、さらには神経細胞死といった一連の過程において、これを阻止する予防・治療薬の開発が行われつつある。その中で最も実現性の高いものが、ワクチン療法である。

## 2. ワクチン療法の発見

ワクチン療法という意外な治療法に最初に気がついたのは、米国エラン社のDale Schenk博士らである。彼らはヒトのAPP遺伝子を導入したトランスジェニックマウスをいち早く作ることに成功していた。通常のマウスは2~3年たっても老人斑はできないが、このマウスは生後1年ごろからヒトと同様の老人斑ができ、学習障害などの認知機能障害を起こす。彼らはこのマウスを合成 $A\beta_{1-42}$ とアジュバントで免疫したところ、できていたと思われる老人斑が減少し、新しくできる老人斑も阻止されることを見いだしたのである<sup>1)</sup>。この現象はマウスの能動免疫を必要とせず、 $A\beta$ に対する抗体を移入するという受動免疫によってもみられることが分かった<sup>2)</sup>。

## 3. ワクチン療法のメカニズム

### 1) アミロイド貪食仮説

前出の研究者らは $A\beta$ に対する複数の抗体を用意し、受動免疫によりその効果を調べた。その結果、同じ $A\beta$ 抗体ではあるが、有効な抗体と無効な抗体があることが分かった。そこで、老人斑を有するトランスジェニックマウス脳あるいはAD脳の凍結切片を作製し、これに各種の抗体をかけ、さらに脳内の貪食細胞であるミクログリアをかけた。そうしたと

表 アルツハイマー病のアミロイド仮説を支持する事項

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. 老人斑は高齢者の脳にも見られるが、それを除くとアルツハイマー病に特異的である。</li><li>2. 老人斑はアルツハイマー病の最も早い病理変化で、神経原線維変化より10年先行する。</li><li>3. 老人斑の分布とアルツハイマー病変の分布がほぼ一致する。</li><li>4. 家族性アルツハイマー病遺伝子であるアミロイド前駆体蛋白、プレセニリン遺伝子変異は、<math>\beta</math>蛋白産生を増強する。</li><li>5. ApoE E4は老人斑形成を促進する。</li><li>6. APPトランスジェニックマウスの脳には老人斑ができる。</li><li>7. <math>\beta</math>蛋白は<i>in vitro</i>で神経毒性を示す。</li><li>8. タウトランスジェニックマウス脳に<math>\beta</math>アミロイドを注射すると、神経原線維変化を促進する。</li></ol> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

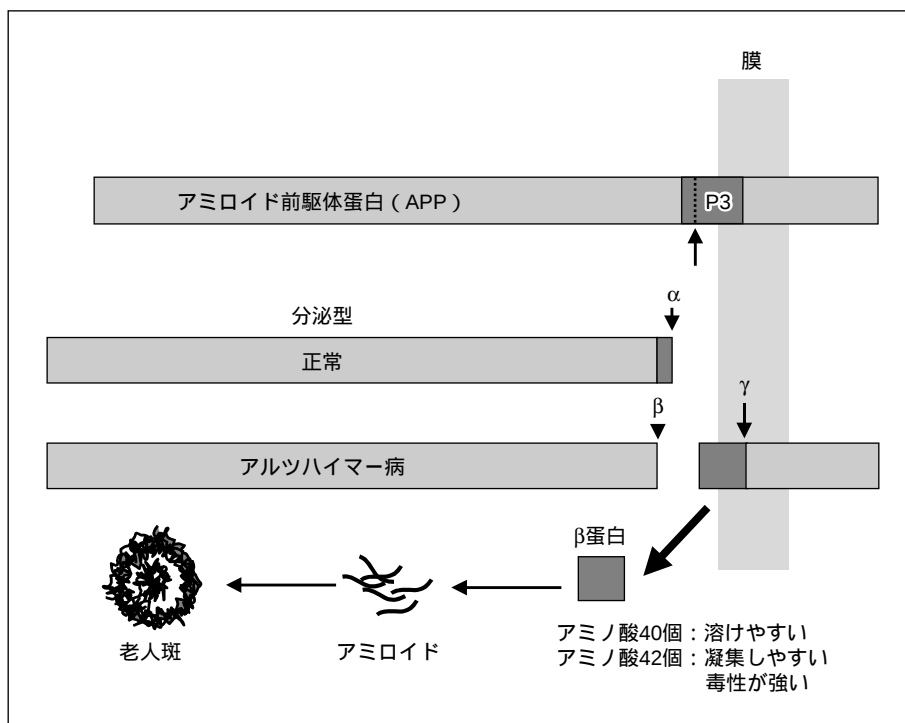


図1 老人斑の形成機序

ころ、有効な抗体をかけたときはミクログリアが切片上のβアミロイドをよく貪食したが、無効な抗体ではほとんど貪食しなかった。さらに、有効な抗体はFc部分を除くと無効となることが分かった。そこで彼らは、Aβ抗体がβアミロイドに結合し、Fc受容体を介してミクログリアに貪食されるとの仮説を提唱した<sup>2)</sup>(図2)。

## 2) 引き抜き仮説

これに対し、引き抜き仮説(sink hypothesis)というのがある<sup>3)</sup>。これはAβ抗体が主として末梢Aβと結合し、その分解・除去を促進することによりAβ濃度に中枢と末梢の勾配が生じ、結果的に中枢のAβが引き抜かれるとするものである。

## 3) アミロイド融解、凝集阻害仮説

有効なAβ抗体はAβのN末部分(4-10)を認識し、抗体がその凝集を阻害し、凝集した

βアミロイドも融解するとの仮説もある。

## 4. ワクチン療法による学習障害の改善

メカニズムはともかく、ワクチン接種を受けたトランスジェニックマウスは学習障害が改善した<sup>4)</sup>。すなわち、このトランスジェニックマウスを生後15.5カ月のとき水迷路試験等を行うと、記憶障害に基づく学習障害を示す。しかし、ワクチンを接種したマウスでは明らかに学習障害が改善された。

## 5. ヒトでの治験の実施

Aβワクチンにより老人斑の形成が阻止され、学習障害も改善したので、欧米でヒトでの治験が行われた。ワクチンの名前はAN-1792, 合成Aβ1-42とアジュバントQS21

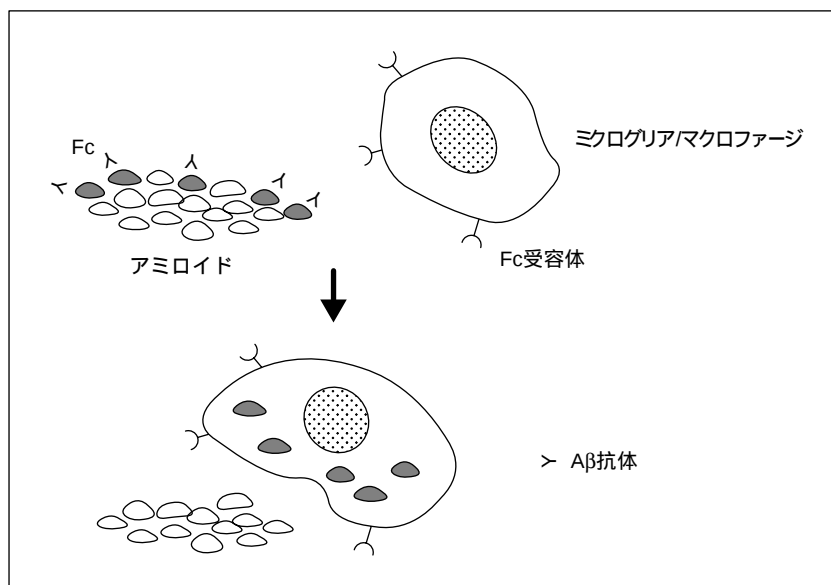


図2 ワクチン療法のメカニズム：Fc 受容体を介するミクログリアによる貪食 (Schenk)

の混合物で、皮下もしくは筋肉内接種するタイプで、1 カ月に 1 回接種する。中等～重症 AD において 6 カ月間の phase study では安全性が確認されたので、360 例の軽～中等症の AD において phase study が行われた。しかし、薬を投与された 298 例中 18 例に副作用としての急性髄膜脳炎が起こったため、その治験は中止となった。その急性髄膜脳炎は、 $A\beta$  に反応する T 細胞によって引き起こされた自己免疫性のものと考えられている。

## 6. ワクチン療法の有効性

治験は中止になったが、ワクチン療法が有効と考えられる 2 つのデータが得られた。一つは、不幸にして髄膜脳炎を起こした後死亡した症例の剖検例の報告である。英国の Nicoll らは、ワクチン接種後 1 年後に死亡した患者の脳では部分的に老人斑は残っているものの、大部分は消失したと思われる所見を

示した<sup>5)</sup>。すなわち、老人斑はほとんどみられない頭頂葉や側頭葉に血管アミロイドーシスが多くみられ、神経原線維変化を有するニューロンや変性神経突起や  $\beta$  アミロイドを貪食したミクログリアがみられた。また、髄膜には  $CD4^+$  T 細胞からなる細胞浸潤が残存していた。

Nitch らは、治験中止後 1 年間患者の経過を観察した結果を報告した<sup>6)</sup>。それによると、老人斑  $\beta$  アミロイドに結合する抗体が上昇した群では、上昇しなかった群に比較し、明らかに病気の進行が抑えられていた。これらの結果から、ワクチン療法はヒトでも有効ではないかと考えられ、安全なワクチン開発が世界競争となっている。

## 7. 安全なワクチン、代替法の開発

T 細胞の認識部位は主として C 末側にあるので、N 末側の  $A\beta$  ペプチドを用いるワクチン、抗体が有効であるので、 $A\beta$  抗体を用い

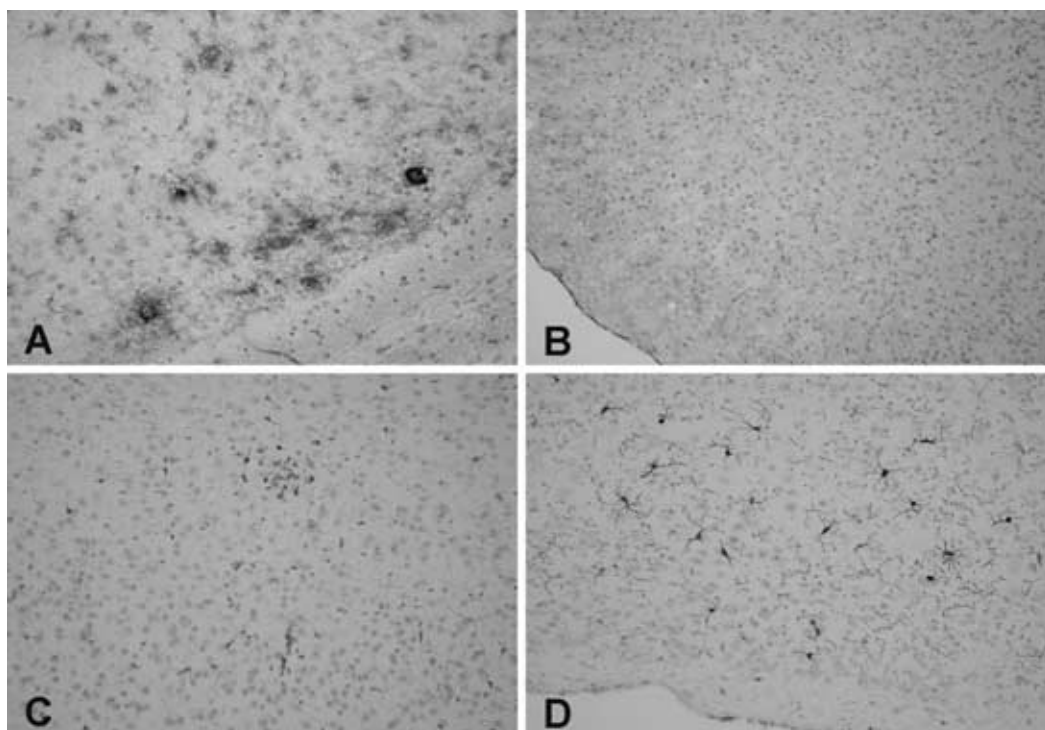


図3 ワクチン接種マウス脳の免疫染色

A, C: コントロールマウス, B, D: ワクチン接種マウス, A, B: 4G8 染色, C, D: Iba1 染色  
ワクチン接種マウスでは老人斑が著しく少なく, 活性化ミクログリアは逆に多くみられた.

る方法, 点鼻薬としてのワクチン, 何らかの方法による末梢への引き抜き法の開発などである. 確かに主たるエピトープはC末側にあるが, N末部分に反応しないとは限らず, 必ずしも安全ではない. 点鼻薬はT細胞の活性化を抑える利点があるが, アジュバントを使わねばならず, またAβが嗅神経に沿って脳内に入るので, 必ずしも安全ではない. その中で抗体は最も現実的であるが, 血液製剤としての問題, 異種抗体に対する反応, 抗イデオタイプ抗体などクリアすべき課題も多い. われわれは安全で有効な経口ワクチンを開発した.

## 8. 経口ワクチン

われわれは, アデノ随伴ウイルスベクターにAPPのシグナルペプチドおよびAβ1-43,あるいはAβ1-21をコードするcDNAを組み換えた経口ワクチン(rAAVワクチン)を開発した. このワクチンを, APPトランスジェニックマウスtg2576に生後15週, 30週, 45週のとき1回だけ経口投与した. コントロールはそれぞれの週齢で生理食塩水を投与した. いずれのマウスも生後56週で安楽殺し, 脳を調べた(実験は当施設動物実験倫理委員会の承認のもとに, 動物愛護の精神にのっと

り適正に行われた)。その結果、ワクチン接種マウスではいずれも老人斑の程度が有意に軽減されていた(図3)。ワクチン接種マウスではA $\beta$ に対する抗体が上昇し、6カ月後も上昇していたが、T細胞の反応は全くみられなかった。ワクチン接種動物ではGFAP陽性のアストロサイトが有意に減少しており、Iba1陽性の活性化ミクログリアが有意に増加していた。現在、サルでの安全性、有効性をテストしている。

## 9. rAAV 経口ワクチンの利点

われわれは日常、肉、魚、牛乳、卵といった異種蛋白を経口摂取している。これら外来抗原には多くの脳炎惹起抗原が含まれており、Th1細胞が活性化されると、脳炎をはじめとする自己免疫疾患が起こる。したがって腸管ではT細胞の反応、特にTh1反応を抑え、Th2反応を高める免疫調節機構が備わっており、抗体反応のみよく起こるようになっている。実際A $\beta$ に対する抗体は6カ月経っても上昇しており、1回の服用で6カ月~1年有効であると考えられる。また、腸管上皮は数日で新しいものに変わるので、遺伝子除去の必要性がない。

おわりに

以上、アルツハイマー病はアミロイド仮説のもとに研究が進展し、遂に根本的な予防・治療に手が届くところにまでやってきた。特にわれわれが開発した経口ワクチンは安全であり、少なくともマウスでみる限り効果も高く、期待がかかる。

〔文献〕

- 1) Schenk D, Barbour R, Dunn W, *et al* : Immunization with amyloid- $\beta$  attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999 ; 400 :

173—177.

- 2) Bard F, Cannon C, Barbour R, *et al* : Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000 ; 6 : 916—919.
- 3) DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, *et al* : Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 8850—8855.
- 4) Janus C, Pearson J, McLaurin J, *et al* : A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000 ; 408 : 979—982.
- 5) Nicoll JA, Wilkinson D, Holmes C, *et al* : Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide : a case report. *Nat Med* 2003 ; 9 : 448—452.
- 6) Hock C, Konietzko U, Streffer JR, *et al* : Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003 ; 38 : 547—554.

## 質 疑 応 答

**座長(朝田)** 非常に印象的な経口アミロイドワクチン療法のお話をありがとうございました。ご質問やご意見がございましたらお願いいたします。

**野々村禎昭(微生物科学研究会)** 非常にexcitingなお話をありがとうございました。1点うかがいたいのは、最初に外国の連中がワクチンに取り組んだメカニズムのお話のときに、中枢に入るのか、または末梢にあって引き出すのかをいわれました。先生は簡単に中枢に入るとおっしゃったと思いますが、抗体は簡単にBBB(blood-brain barrier)を通るのでしょうか。

**田平** 簡単には通りません。ただ私たちの脳にはBBBのないところが6カ所あります。特に視床下部付近は血管に穴が空いていて、それはホルモンの調節のためにわざわざ穴が空いているのですが、抗体はそこを通っ

て視床下部に入ります。それは間質を通して全脳に広がることはわかっています。ですから、徐々にですが、抗体は十分脳に到達できることはわかっています。

**野々村** もう一つ、これは私が全然知らなくて驚いたのですが、ゲルゾリンが  $A\beta$  に結合するといわれたと思いますが、それが事実だとすると、血中にはいわゆる血清ゲルゾリンが豊富にありますから、それは常時引き出せるはずなので、それを引き出すという考え方はやはりおかしいと思ったのです。そのあたりのことはいかがでしょうか。

**田平** 私はそういうことは全然知りませんが、そんなに豊富にあるのですか。

**野々村** 細胞性ゲルゾリンと血中ゲルゾリンがありまして、今ゲルゾリンを簡単に採るには血液から採るくらいです。ただ私が知らなかったのは、ゲルゾリンは本当は actin binding protein で actin だけの結合が specific だと思っていたのですが、 $A\beta$  とゲルゾリンは結合するのですね。

**田平** これは松岡さんという方が行われた実験でありまして、ゲルゾリンは硝子体 amyloidosis を起こすことでも知られる蛋白です。ですからある程度固まった状態で  $\beta$  蛋白をよくつけるのかもしれませんが。

**渡辺 憲** (渡辺病院) 大変素晴らしい夢のあるご発表をありがとうございました。最近一般の新聞でも報道され、また学会でも注目してありました。安全性に優れたワクチンで、しかも効果は、ヨーロッパや米国の、剖検例

に匹敵するほどかなりアミロイドを減らせること、しかも先生がおっしゃったように、進行を止めるだけでなく、ある程度症状が出て、 $A\beta$  による神経障害が始まった例でも、 $A\beta$  を取り除くことによって機能を回復させられ、神経細胞自体のさまざまな機能を回復できるという話で、非常に勇気づけられた次第です。将来これが臨床的に使われるようになった場合、予防的ばかりでなく、重症例では難しいでしょうが、中等度程度に進行した例まで有効とお考えでしょうか。

**田平** スタートするには、先ほどから話題になっている MCI あるいはもう一つ早いところが、一番よいのではないかと思います。そして中等度までは、進行を抑制する意味においては有効かと思っています。advanced stage まで至った場合は、別の方法を考えなければならいかもしれません。

**座長** 実際に使用できるまで 2~3 年という可能性もあるといわれましたが、今後先生方が最も検討され、克服しようとされている内容、課題は何なのでしょう。

**田平** やはり人間に進むときの審査で、これが一番長引くのではないかと思います。米国では簡単に行ってしまうのですが、日本はかなり厳しいです。サルの実験をするだけでも数カ月待たされます。このような状況では、私は世界に勝てないのではないかと考えていますので、そのあたりをよろしく願いたいと思います。

**座長** どうもありがとうございました。