

[原著]

## アルツハイマー病ワクチンに用いるアジュバントの研究

松田 純<sup>1,\*</sup> 上 伸 一 義<sup>1</sup> 野 崎 周 英<sup>2</sup>

Research of adjuvants for Alzheimer's disease vaccine

Junichi MATSUDA, Kazuyoshi KAMINAKA, Chikateru NOZAKI

### 要旨

アルツハイマー病克服のアプローチの一つとして、アミロイドβをターゲットとしたワクチン開発が進められている。過去、全長のアミロイドβペプチドにサポニンのアジュバントとして加えたワクチンの臨床試験が行われたが、細胞性免疫によると考えられる髄膜脳炎が出現し、中止となった。その原因は全長のアミロイドβペプチド内のT細胞エピトープ、アジュバントにあったと考えられている。従って有効で安全なアミロイドβペプチドアジュバントの組み合わせの開発が望まれている。これまでに我々は細胞性免疫を誘導する可能性がある配列を除いた改変アミロイドβペプチドにシステインを付加することで高い抗体産生能を示すことを見出し報告した。今回、脂質異常治療薬のシステイン付加アミロイドβペプチドワクチンに対するアジュバント効果を検討した。脂質異常治療薬はスタチン類、小腸コレステロールトランスポーター阻害剤、フィブラート類およびビグアナイド系薬剤を用いた。その結果、いずれにおいてもシステイン付加アミロイドβペプチドワクチンに対するアジュバント効果が認められ、特にロバスタチン、イコサベント酸エチル、ベザフィブラートはAlumアジュバントと比較しても高いアジュバント効果を示した。以上の結果から、脂質異常治療薬は高い抗体産生誘導能を示すことが判った。アルツハイマー病ワクチン開発において脂質異常治療薬は有望なアジュバント候補の一つになり得ると考えられる。

キーワード：アルツハイマー病、ワクチン、アジュバント、アミロイドβ、脂質異常治療薬

### I. はじめに

ワクチンは感染症の予防に用いる医薬品で、病原体やその成分を無毒化あるいは弱毒化された抗原を投与することで感染症に対する免疫を誘導するものと従来説明されてきた。しかし、近年ではワクチンは感染症だけでなく、様々な非感染症の疾患に対して予防・治療用の医薬品としての開発も進められ、すでに臨床で用いられているものもある<sup>1) 2)</sup>。そのなかでも非感染症に対する治療用ワクチンは、発症

や病態増悪の鍵となるペプチドやタンパク質に対する免疫反応を促し、疾患を治療する医薬品である。2010年には米国で初の前立腺癌を対象とした治療用がんワクチン「Provenge」が承認された<sup>3) 4)</sup>。現在、膀胱がん、肺がん、卵巣がん、腎臓がんなど種々のがんを標的とした治療用がんワクチンの開発が進められている。また、がん領域以外のアレルギー疾患、糖尿病、アルツハイマー病(AD)等の神経性疾患、ニコチン中毒など様々な疾患を対象とした開発も進められている<sup>5) 6) 7) 8)</sup>。

所属

<sup>1</sup>一般財団法人 化学及血清療法研究所

<sup>2</sup>熊本保健科学大学 保健科学部 医学検査学科(兼)大学院 保健科学研究科

\*責任著者：matsuda-ju@kaketsuken.or.jp

ADは認知症の一つでその患者数は年々増加し、大きな社会問題となっている疾患である。ADの患者の脳内には可溶性のアミロイド $\beta$  ( $A\beta$ )が増加しアミロイド沈着が認められる。この可溶性 $A\beta$ やそのオリゴマーが神経細胞への毒性が強いことからADの主原因の一つと考えられている。ADの予防/治療用ワクチンに関しては、 $A\beta$ の全長ペプチド(42残基)にアジュバントを加えたワクチン(AN-1792)の開発が進められていたが、臨床試験において細胞性免疫が起因したと推察される髄膜脳炎が発生し中止となった。その原因は抗原として用いた $A\beta$ ペプチド内に細胞性免疫を誘導する配列が存在したこと、アジュバントに細胞性免疫を強力に誘導するサポニンが用いられたことに起因すると考えられている<sup>9) 10) 11) 12)</sup>。AN-1792の試みは、安全で有効なADワクチンの開発には細胞性免疫を誘導しない $A\beta$ ペプチドの改変と安全なアジュバントの選択が重要であることを示した。

アジュバントとは、抗原と混合して生体に投与することにより抗原に対する免疫応答を増強する物質のことを示す。アジュバントはワクチンの用量や投与回数を低減させる点で非常に有用である。代表的なアジュバントとして古くから多くのワクチンに利用されているのが水酸化アルミニウム(Alum)であるが、免疫誘導効果(強くはない)や利便性(水に溶けない)の観点から、理想的なアジュバントとは言い難い。Alum以外では、上述のADワクチンに用いられたサポニン、新型インフルエンザワクチンに用いられたスクアレン、子宮頸がんのアジュバントであるMPL(Monophosphoryl lipid)など挙げられるが<sup>13)</sup>、いずれもアジュバント活性が高い反面、副反応も強いという弱点を有している。

我々はこれまでに細胞性免疫を誘導する配列を除いた $A\beta$ ペプチドの配列にシステインを付加する(システイン付加アミロイドペプチド: $A\beta$ Cys)ことで、アジュバントなしでも高い $A\beta$ に対する抗体産生能を誘導できることを見出した<sup>14)</sup>。その研究では、100 $\mu$ g/shotではアジュバントなしでも高い抗体を誘導できるが、用量を10 $\mu$ g/shotに下げるとその効果が認められなかった。そこで低用量の $A\beta$ Cysでも高い抗体を誘導できるアジュバントの探索を行ってきた結果、脂質異常症治療薬にアジュバント効果が認められることが判った。脂質異常症治療薬は、医薬品として非常に多くの人に使用

されおり人体への安全性も実証され情報も公開されている<sup>15)</sup>。さらに脂質異常症治療薬は溶媒に対する溶解性が優れるため調剤が容易である。このような高い安全性が期待できる脂質異常症治療薬を用いた低用量 $A\beta$ Cysに対するアジュバント効果を検討したので、その結果を報告する。

## II. 材料および方法

### 1 動物

マウスC57BL/6(雄, 7週齢, SPF)を日本チャールスリバー社より購入し、SPF環境下で飼育した。免疫物の投与は1群4匹として8週齢から実施した。動物の飼育および実験に関しては、化血研動物実験規程を遵守した。

### 2 $A\beta$ Cys

$A\beta$ Cysは $A\beta$ ペプチドのN末端から28番目の配列のC末端にシステインを1分子付加したペプチド( $A\beta$ Cys(28AACys): N末-DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK-C, PHジャパン社)を用いた。

### 3 脂質異常症治療薬の調製

スタチン類はロバスタチン(和光:125-04581)、シンバスタチン(和光:193-12051)及びアトルバスタチン(アトルバスタチンナトリウム, 和光:A791725)、フルバスタチンナトリウム(ナカライ:24185-15)、メバスタチン(コンバクチン, 和光:033-17301)、ピタバスタチンカルシウム(和光:163-24861)、ロスバスタチン(クレストール5mg錠:アストラゼネカ)、プラバスタチン(ナカライ:59718-84)を用いた。ロバスタチン, シンバスタチン, メバスタチンはエタノール(ナカライ:147-13)に、アトルバスタチン, フルバスタチンナトリウム, プラバスタチンは注射用蒸留水(日本薬局方, 大塚製薬)に5mg/mLの濃度に溶解した。ロスバスタチンは注射用蒸留水に5mg/mLの濃度で分散させた。

小腸コレステロールトランスポーター阻害剤はエゼチミブ(ゼチーア錠:バイエル薬品)を用いた。エゼチミブは注射用蒸留水に5mg/mLの濃度で分散させた。

魚油類はイコサペント酸エチル(エバデール

S300：持田薬品）を用いた。イコサベント酸エチルは注射用蒸留水に5 mg/mLの濃度で分散させた。

フィブラート類はベザフィブラート（SIGMA：B7273-1G）、フェノフィブラート（SIGMA：F6020-5G）を用いた。ベザフィブラート、フェノフィブラートはDMSOに5 mg/mLの濃度に溶解した。

糖尿病治療に用いられるビグアナイド系薬剤としてメトホルミン（和光：138-15581）を用いた。メトホルミンは注射用蒸留水に5 mg/mLの濃度に溶解した。

各評価物質（脂質異常症治療薬）は使用時まで-80℃に凍結保存した。コントロールとしてのAlumアジュバントはALHYDROGEL '85' 2%（BRENNTAG社）を用いた。

#### 4 免疫物の調製

免疫物は生理食塩液（日本薬局方、大塚製薬）に溶解したAβCysと評価物質溶液を等量混合することで調製した。評価物質およびAβCysの動物1匹あたりの投与量を表1に示した。

#### 5 免疫方法及びスケジュール

各免疫物をマウス1匹あたり200 μLずつ1 mL ツベルクリン用注射器（テルモ、SS-01T2613S）を用いた腹部皮下内に投与した。マウスへの免疫は2週

間隔で2回行った。

#### 6 採血

2回目投与14日目にすべてのマウスをペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル、共立製薬）麻酔下腹部大静脈より採血して殺処分した。採取した血液はマイクロティナ（BECTON DICKINSON社）に移し、室温にて十分に凝固させた後、5,000回転、10分間遠心分離した。分離した血清は各々0.5 mLチューブ2本に分注し、測定まで-80℃にて保存した。

#### 7 抗AβIgG抗体の測定

Aβペプチド（N末端より40番目までのアミノ酸配列、Invitrogen：03-136）を0.1 M Carbonate buffer, pH9.6で10 μg/mLに希釈し8 well strips（Nalge-Nunc社、Immobilizer Amino）に100 μL/well加え、4℃で一夜静置して固相化した。翌日、各wellを300 μLの0.05% Tween20含有PBS（PBST）で3回洗浄し、10 mM ethanolamineを300 μL/wellずつ添加して、室温で1時間静置した。1時間後、10 mM ethanolamineを十分に除き、PBSTで検体を50倍～10000倍に希釈して100 μL/wellにて添加した（各検体ともduplicate）。室温で1時間の反応の後、添加した各希釈血清を捨て300 μL/wellのPBSTで3回洗浄した。洗浄後、well内の洗浄液を

表1. 免疫物の調製：アジュバント効果評価物質の名称、薬剤分類、免疫物の投与量を示す。

評価物質		投与量(μg/200μL/body)	
		評価物質	28AACys
ロバスタチン	スタチン	500	10
		100	10
		10	10
		1	10
シンバスタチン	スタチン	100	10
アトルバスタチン	スタチン	100	10
フルバスタチン	スタチン	100	10
メバスタチン	スタチン	100	10
ピタバスタチン	スタチン	100	10
ロスバスタチン	スタチン	100	10
プラバスタチン	スタチン	100	10
イコサベント酸エチル	魚油	100	10
ベザフィブラート	フィブラート類	100	10
フェノフィブラート	フィブラート類	100	10
エゼチミブ	小腸コレステロールトランスポーター阻害剤	100	10
メトホルミン	ビグアナイド系	100	10
Alum		2000	10
なし（生理食塩液）			10

十分に除き、検体希釈液を用いて2000倍希釈したHRP標識抗マウスIgGヤギ抗体 (American Qualex社, A131PS) を100  $\mu$ L/wellにて添加し、室温で1時間反応した。その後、標識抗体希釈液を捨て300  $\mu$ L/wellのPBSTで2回、同量の蒸留水で2回洗浄し、発色基質液TMB+ (Dako社) を100  $\mu$ L/well添加して遮光下、室温で30分間反応した。その後、1N硫酸を100  $\mu$ L/well添加して発色を停止し、450 nmの吸光度 (OD450値) を測定した。

標準血清として市販のA $\beta$ に対するモノクローナル抗体 (CHEMICON社 MAB1560) を用いた。標準血清をPBSTにて0.156, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 ng/mLとなるように希釈し、抗体価測定時のスタンダードを調製した。各被検マウス血清の抗A $\beta$  IgG抗体測定と同時に、各希釈検体をduplicateにてそれらのOD450値を測定した。得られたスタンダードの単位とOD450値の標準直線より各被検マウス血清の抗A $\beta$  IgG抗体価を算出した。

## 8 統計処理

データは、平均 $\pm$ 標準偏差 (SD) として示した。有意差検定はt検定によって処理し、有意差水準は1%, 5% ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) とした。

## Ⅲ. 結果

### 1 スタチンの評価

脂質異常症治療薬の代表例としてスタチン類のロバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチンについてアジュバント効果を検討した。データの評価は2~3回分 ( $n = 8 \sim 12$ ) を統合して実施した。28AACys 10  $\mu$ gの単独投与では抗体価は約340 ng/mLであったのに対して、アジュバント剤である20 mgのAlumと共に投与すると抗体価は約37000 ng/mLであった。これらに対して、100  $\mu$ gの各スタチン類とA $\beta$ Cysと共に投与した場合の抗体価を比較した結果を図1に示す。ロバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約200000 ng/mL、シンバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約88000 ng/mL、アトルバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約60000 ng/mLであり、いずれのスタチン類もA $\beta$ Cys単独投与より高い抗体価を示し、Alumと比較して同等かそれ以上の抗体価を示した。

次に他のスタチン類であるピタバスタチン、フル

バスタチンおよびメバスタチンについて評価した。28AACys 10  $\mu$ gの単独投与では抗体価は約140 ng/mLであったのに対して、ピタバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約44000 ng/mL、フルバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約25000 ng/mL、メバスタチンと共に投与した場合に抗体価は約21000 ng/mLと高い抗体価を示した (図2)。

今回、比較検討したスタチン類ではA $\beta$ Cys単独投与の約176倍から588倍の抗体価を誘導し、Alumより高いアジュバント効果を示すものが多かった。

尚、今回実施したマウスへの皮下投与では、Alum群で投与部位での炎症反応が認められたものの、検討した脂質異常治療薬においては投与部位および一般状態に異常は認められなかった。

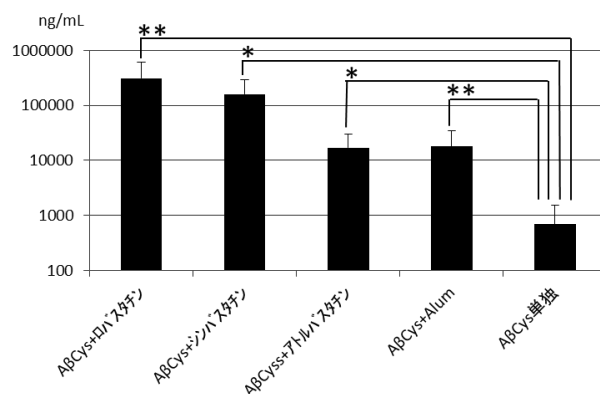


図1. ロバスタチン, シンバスタチン, アトルバスタチンの評価: 横軸に各評価物質, 縦軸に抗体値 (ng/mL) 及びSDを示す。シンバスタチン, アトルバスタチンは  $n=8$ , 他は  $n=12$ , \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$

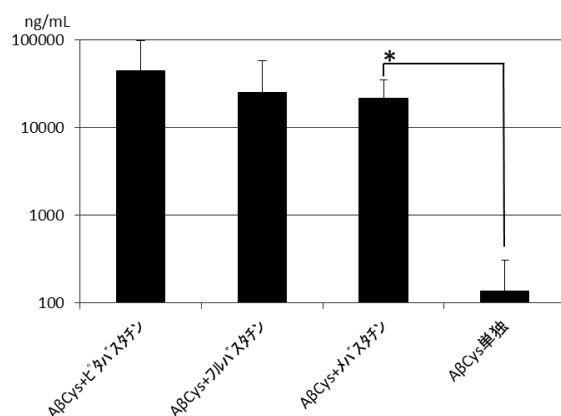


図2. ピタバスタチン, フルバスタチンおよびメバスタチンの評価: 横軸に各評価物質, 縦軸に抗体値 (ng/mL) 及びSDを示す。 $n=4$ , \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$

2 魚油, フィブラート類, 小腸コレステロールトランスporterおよび他のスタチン類の評価

表記の評価物質100 μg を AβCys と共に投与し 1 と同様に AβCys 単独投与および Alum 投与との比較検討を行った。28AACys 10 μg の単独投与では抗体価は約200 ng/mL, 20 mg の Alum と共に投与した場合の抗体価は約30000 ng/mL であった。これらに対して魚油のイコサベント酸エチルの抗体価は約150000 ng/mL で28AACys 単独投与の約742倍を示した。フィブラート類のベザフィブラートの抗体価は約100000 ng/mL で28AACys 単独投与の約786倍, フェノフィブラートの抗体価は約9000 ng/mL で28AACys 単独投与の約97倍であった。小腸コレステロールトランスporterのエゼチミブの抗体価は約50000 ng/mL で28AACys 単独投与の約487倍であった。ロスバスタチンの抗体価は約60000 ng/mL, プラバスタチンの抗体価は約30000 ng/mL を示した (図3)。イコサベント酸エチル, ベザフィブラート, エゼチミブ, ロスバスタチンが Alum より高い抗体価を示した。本実験でも Alum 群で投与部位での炎症反応が認められたものの, 検討した薬剤においては投与部位および一般状態に異常は認められなかった。

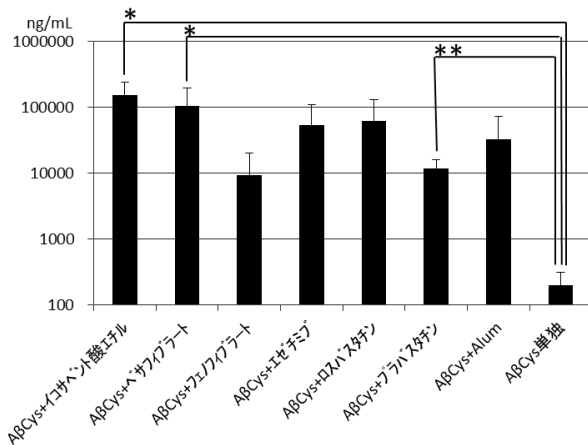


図3. イコサベント酸エチル, ベザフィブラート, フェノフィブラート, エゼチミブ, ロスバスタチン, プラバスタチンの評価: 横軸に各評価物質, 縦軸に抗体値 (ng/mL) 及びSDを示す。n=4, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

3 ロバスタチンの用量及びメトホルミンの評価

ロスバスタチンの500 μg から1 μg の間の用量依存性及びメトホルミンについて AβCys 単独投与および Alum 投与との比較検討を行った。28AACys 10

μg の単独投与では抗体価は約250 ng/mL であったのに対して20 mg の Alum と共に投与した場合, 抗体価は約40000 ng/mL であった。これらに対して500 μg のロスバスタチンと共に投与した場合の抗体価は約480000 ng/mL, 100 μg のロスバスタチンと共に投与した場合の抗体価は約90000 ng/mL, 10 μg のロスバスタチンと共に投与した場合の抗体価は約10000 ng/mL, 1 μg のロスバスタチンと共に投与した場合の抗体価は約170 ng/mL と用量依存性を示し, 10 μg までアジュバント効果が認められた。ビッグアニド系のメトホルミン100 μg と共に投与した場合の抗体価は約2500 ng/mL で28AACys 単独投与の約10倍の抗体価であった (図4)。

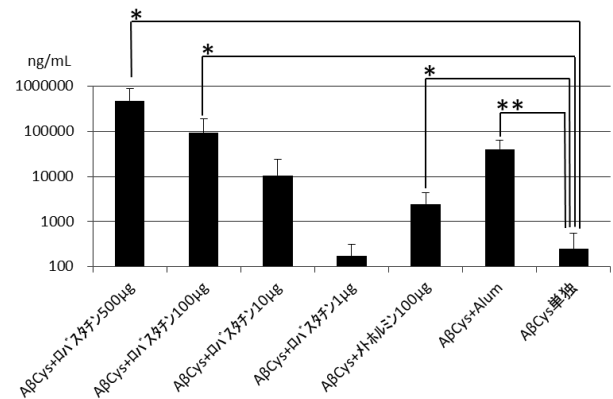


図4. ロバスタチンの用量及びメトホルミンの評価: 横軸に各評価物質, 縦軸に抗体値 (ng/mL) 及びSDを示す。n=4, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

IV. 考察

アジュバントの作用機序としては, 抗原の吸着, 抗原の分解予防, 抗原提示細胞への取り込み促進, 抗原刺激の持続, さらに直接的な免疫担当細胞の活性化が挙げられる。Toll-like receptors などの自然免疫受容体がアジュバント成分を特異的に認識し, 樹状細胞を中心とした抗原提示細胞を活性化し T 細胞や B 細胞の抗原特異的な活性化を促進することが明らかとされている。また近年, Toll-like receptors は, マイコプラズマやウイルスなどの病原体由来成分以外にも, リポタンパク, ペプチドグリカン, リポテイコ酸, リポ多糖類, CpG-DNA, DNA, ssRNA, dsRNA などの分子を認識することが明らかとなり, これらの分子はアジュバントとしての開発も進められている<sup>17)</sup>。

スタチンは肝臓のコレステロール生成を抑制し LDL 受容体を増加させることで、強力な LDL コレステロール低下作用を示す<sup>18)</sup>。小腸コレステロールトランスポーター阻害薬はコレステロールや胆汁酸の小腸での吸収を抑制することで LDL コレステロールを低下させる<sup>19)</sup>。フィブラート系薬剤は肝臓での中性脂肪の合成を抑制作用する<sup>20)</sup>。魚油は中性脂肪を下げる働きや血小板の凝集性を抑える作用がある<sup>21)</sup>。ビグアナイド薬メトホルミンは AMP キナーゼを介して脂質やブドウ糖の合成抑制や脂肪の消費亢進作用を示す<sup>22)</sup>。またスタチンは強力なアジュバント作用を示すサポニンと同様に抗酸化作用を示すことが知られている<sup>23)</sup>。これらの既知の作用がアジュバント効果に直接関連しているかどうかは明らかではなく、詳細な作用機構に関しては今後の課題であるが、何らかの機構で免疫系の細胞に関与し抗体産生を誘導しているものと考えている。

AN-1792以降、現在開発中の A $\beta$  ペプチドを用いた代表的な AD ワクチンとしては CAD106 (Novartis), UB311 (United Biomedical), AD03 (Affiris/GSK), LUAF20513 (Lundbeck/大塚) などが挙げられる。いずれも副作用惹起が懸念される A $\beta$  ペプチド配列は除去され、さらに Alum, CpG-DNA, MPL や破傷風トキソイドなどの種々のアジュバントが用いられており<sup>24)</sup>、アジュバントの選択は安全な AD ワクチン開発の重要な要因の一つと考えられる。

我々が開発した A $\beta$ Cys はアジュバントなしでも高い抗体産生誘導能を示す。今回の検討では、マウスでは抗体産生能が非常に低い低用量の A $\beta$ Cys に対して脂質異常治療薬のアジュバント効果を検討した。その結果、スタチン類のロバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチン、フルバスタチン、メバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン、プラバスタチン、小腸コレステロールトランスポーター阻害剤のエゼチミブ、魚油類のイコサペント酸エチル、フィブラート類のベザフィブラート、フェノフィブラートでアジュバント効果が確認された。しかも、Alum に観察されるような投与部位での炎症反応も認められず、一般状態に異常は認められなかった。

以上の結果から脂質異常治療薬は低用量の A $\beta$ Cys に対する安全かつ効果的な AD ワクチンのアジュバントの候補になることが期待される。

## V. 結語

アルツハイマー病ワクチンを開発するためにアジュバントの検討を行った。その結果、広く治療に用いられ安全性が確保されている脂質異常治療薬は、我々が既に開発したシステイン付加アミロイド $\beta$ ペプチドの低用量に対しても高いアジュバント効果を有することが示された。

尚、本研究における利益相反は存在しない。

## VI. 文献

- 1) Heidi Ledford : A shot in the arm for cancer vaccines?. *Nature*, 464 : 1110-1111, 2010.
- 2) 野崎周英 : ワクチンの現状と課題. *薬剤学*, 76 : 4-10, 2016.
- 3) Heidi Ledford : Therapeutic cancer vaccine survives biotech bust. *Nature*, 519 : 17-18, 2015.
- 4) Philip W, Kantoff, MD, Celestia S, Higano, M.D, et al : Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med*, 363 : 411-422, 2010.
- 5) Brightbill HD, Jeet S, Lin Z, et al : Antibodies specific for a segment of human membrane IgE deplete IgE-producing B cells in humanized mice. *J Clin Invest*, 120 : 2218-2229, 2010.
- 6) Pang ZI, Nakagami H : Therapeutic vaccine against DPP4 improves glucose metabolism in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 : 1256-63, 2014.
- 7) Tabira T : Vaccination therapy for Alzheimer's disease. *Clin Neurol*, 49 : 848-850, 2009.
- 8) Schayck, OC, Horstman K, et al : Nicotine vaccination - does it have a future?. *Addiction*, 109 : 1223-1225, 2014.
- 9) Hock C, Konietzko U, et al : Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron*, 38 : 547-554, 2003.
- 10) Ferrer I, Boada R.M, et al : Neuropathology and pathogenesis of encephalitis following amyloid-beta immunization in Alzheimer's

- disease, *Brain. Pathol*, 14 : 11-20, 2004.
- 11) Check E : Nerve inflammation halts trial for Alzheimer's drug. *Nature*, 415 : 462, 2002.
  - 12) Orgogozo JM., Gilman S, et al : Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology*, 61 : 46-54, 2003.
  - 13) 小檜山康司, 石井健 : 自然免疫とワクチン開発. *医学のあゆみ*, 234 : 608-614, 2010.
  - 14) Matsuda J, Kaminaka K, Nozaki C : Amyloid b peptides with an additional cysteine residue can enhance immunogenicity and reduce the amyloid b burden in an Alzheimer's disease mouse model. *Biochem Biophys Res Commun*, 382 : 149-152, 2009.
  - 15) 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部 : 医薬品安全性情報 Vol.10 No.07 (2012/03/27).
  - 16) Okazaki H, Nagashima T, Minota S : Immuno-modulatory activities of statins *Jpn.J.Clin. Immunol*, 27 : 357-360, 2004.
  - 17) 松本美佐子, 瀬谷司 : Toll 様受容体の機能. *生化学*, 81 : 156-164, 2009.
  - 18) Ma PT, Gil G, et al : Mevinolin, an inhibitor of cholesterol synthesis, induces mRNA for low density lipoprotein receptor in livers of hamsters and rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83 : 8370-8374, 1986.
  - 19) Phan BA, Dayspring TD, Toth PP : Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc Health Risk Manag*, 8 : 415-27, 2012.
  - 20) Niort G, Cassader M, Gambiano R, Pagano G : Comparison of the effects of bezafibrate and acipimox on the lipid pattern and plasma fibrinogen in hyperlipidaemic type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetes Metab*, 18 : 221-228, 1992.
  - 21) Ando M, Sanaka T, Nihei H : Eicosapentanoic acid reduces plasma levels of remnant lipoproteins and prevents in vivo peroxidation of LDL in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 10 : 2177-2184, 1999.
  - 22) Musi N, Hirshman MF, et al : Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*, 51 : 2074-2081, 2002.
  - 23) Davignon J, Jacob RF, Mason RP: The antioxidant effects of statins. *Coron Artery Dis*, 15 : 251-258, 2004.
  - 24) Tabita T: Immunotherapy targeting A  $\beta$  for Alzheimer's disease. *神経治療* 33 : 415-419, 2016.

(平成29年11月27日受理)

## Research of adjuvants for Alzheimer's disease vaccine

Junichi MATSUDA, Kazuyoshi KAMINAKA, Chikateru NOZAKI

### Abstract

The vaccine targeting amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) is the more advanced therapeutic interventions in Alzheimer's disease (AD). The first clinical trial for the AD vaccine was performed by administering intramuscularly a medicament comprising a full length  $A\beta$  peptide together with a purified saponin as an adjuvant. However, since serious meningoencephalitis was observed in some subjects, this trial was discontinued. It is thought that meningoencephalitis is caused by this AD vaccine as a consequence of the use of a potent adjuvant and cellular immunity induced by T cell epitopes present in  $A\beta$  sequence. Thus, development of a safer and more efficacious method with a combination of an  $A\beta$  peptide in a safer form with a safer adjuvant is desired. Our previous report showed that the cysteine-added  $A\beta$  peptide without using a full length of  $A\beta$  peptide had high antibody producing ability. In this study, we examined the adjuvant effect of therapeutic agents for dyslipidemia against to our cysteine-added  $A\beta$  peptide. Statins, inhibitors of intestinal cholesterol transporter, fibrates and biguanide-based medicines were used as therapeutic agents for dyslipidemia against. As a result, adjuvant effect on cysteine-added  $A\beta$  peptide was observed in all cases. Especially lovastatin, ethyl icosapentate, bezafibrate showed a high adjuvant effect as compared with Alum adjuvant. These results suggest that some therapeutic agents for dyslipidemia could induce a strong antibody response. These therapeutic agents for dyslipidemia could be useful candidates for the adjuvant of AD vaccine.