

腎移植領域における分子標的治療薬

Molecular targeted therapy in kidney transplantation

齋藤和英

Kazuhide SAITO

はじめに

分子標的治療(薬)とは、ある特定の分子を標的として、その機能を制御することによって疾病の治療を行うこと、あるいはその薬剤を指す。腎移植領域においては移植免疫反応を司るカスケードのさまざまな分子を制御することにより免疫抑制効果を発揮し、拒絶反応の発症を阻止し、移植腎の生着を目指す。

古典的な免疫抑制薬としては核酸合成阻害薬である6-メルカプトプリン(6-MP)誘導体であるアザチオプリンや、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロンなどのコルチコステロイドがあるが、これらの薬剤は、その作用機序からT細胞、B細胞などの機能や細胞増殖を広く抑制するものであり、いわゆる分子標的薬ではない。しかし、1970年代にスイスのサンド社(当時)で開発されたシクロスポリン(CYA)は、T細胞の核内においてカルシニューリンを阻害しインターロイキン-2(IL-2)の転写を抑制することによって、T細胞増殖を強力に抑制し免疫抑制効果を発揮する、まさに「分子標的治療薬」のさきがけである。CYAの登場によって拒絶反応発症率は劇的に低下し、1年腎生着率は80%を超え、腎移植は標準的な腎代替療法の一つとして確固たる地位を占めるに至った。まさに「時代を変えた」薬剤である。

移植領域で新規開発・臨床応用され、自己免疫疾患治療に応用された薬剤もあれば、抗腫瘍薬として開発・臨床応用された分子標的薬が移植領域に応用された例もあり、「臨床免疫学」をハブとして大きな拡がりを見せている。

本稿では、腎移植領域で使用されている分子標的薬について解説を加えたい。

腎移植領域における分子標的治療薬

1. カルシニューリン阻害薬(calcineurin inhibitor : CNI) 1) シクロスポリン(ciclosporine : CYA)

CYAは、1969年にノルウェーのハルダンゲル高原の土壤に含まれる *Tolypocladium inflatum* から発見された、分子量1,202の環状ポリペプチド構造を持つ化合物である(図1)。1972年にスイス、サンド社(当時)のBorelが強力な免疫抑制活性の存在を発見し、1978年、英国の移植外科医 Roy Calne によって臨床試験が行われた。

CYAはTリンパ球によるIL-2などのサイトカイン転写を特異的、可逆的に抑制することにより免疫抑制効果を発揮する。わが国においては1980年頃から輸入、試験的使用が行われ、1985年11月に正式に認可された。当初は高用量モノセラピー(12~15mg/kg/日)で使用されたが、腎糸球体輸入細動脈の高度の攣縮による糸球体障害、尿細管障害が頻発した。その後、低用量CYA(6~8mg/kg)にアザチオ

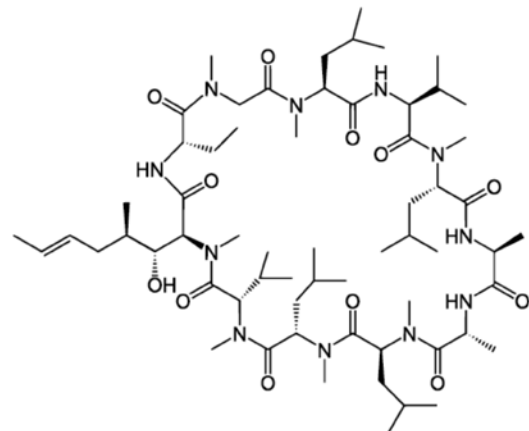


図1 シクロスポリン

プリン，ステロイドを併用する3剤併用療法が標準的となった。

Tリンパ球においては，細胞内カルシウム濃度上昇によりカルシウムとカルモジュリンがカルシニューリンを活性化し，核内転写因子NF-ATを脱リン酸化し，IL-2などのサイトカインの転写を促進する。CYAは受容体であるシクロフィリンと結合し，カルシニューリンを阻害することにより免疫抑制効果を発揮するが，シクロフィリンとの結合は濃度依存性であり，薬物濃度が低下すると受容体と容易に解離し，細胞内カルシニューリン活性の抑制効率も血中濃度に反比例する。このような機序からCYAはCNIと呼ばれ，後述のタクロリムスもこのカテゴリーに入る。CYAは疎水性化合物であり，経口投与では腸管からの吸収には胆汁酸による乳化作用が必要であり，吸収の個体差，また同一個体においても食事内容，食事時間と内服時間の関係によって吸収効率にばらつきが大きく，免疫抑制活性にも個体差が生じやすいという問題があった。そこで，1990年代にマイクロエマルジョン化し親水性にした製剤が開発された。本製剤により吸収の個体差が小さくなり，血中濃度を適正に維持することにより安定した免疫抑制活性が得られるようになり，AUC₀₋₁₂，AUC₀₋₄，C₀，C₂を指標としたtherapeutic drug monitoring(TDM)に基づく投与量調節の概念が普及した。現在も腎移植後免疫抑制療法の一翼を担う主な薬剤として臨床で使用されている。

2) タクロリムス (tacrolimus : TAC)

TACは，23員環マクロライド・マクロラクタム構造を持つ免疫抑制薬である(図2)。1984年，藤沢薬品工業(当時)の研究所で，筑波山の土壌から抽出された*Streptomyces tsukubaensis*の培養上清から分離された。CYAより強力な免疫抑制活性を持つことが明らかになり，免疫抑制薬として開発が進んだ。まず米国ピッツバーグ大学の移植外科医Starzlらによって肝移植での効果が確認されたのを皮切りに，すべての臓器移植に使用されるようになった。わが国では1993年に肝移植，1996年に腎移植への使用が承認さ

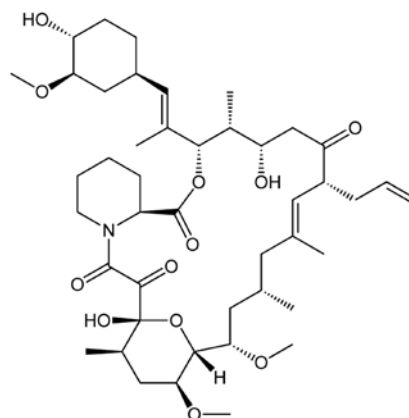


図2 タクロリムス

れている。

TACは細胞内でFKBP(FK-binding protein)と複合体を形成し，カルシニューリンと結合，CYAと同様の機序でNF-ATの脱リン酸化反応を抑制することにより，IL-2などのサイトカインの転写抑制を介して主にTリンパ球に対する免疫抑制活性を発揮する。

TACもCYA同様，血中濃度と免疫抑制活性に強い相関があり，TDMに基づく投与設計がきわめて重要となる。近年，1日1回の投与で有効血中濃度を維持できる経口徐放製剤が開発されている。また，CYA同様，CYP450 3A4による代謝を主に受けるため，同酵素によって代謝分解される他の薬剤との相互作用(競合拮抗，酵素誘導)や，CYP3A4を阻害するグレープフルーツなどの柑橘類に多く含まれるフラノクマリン類化合物に対しては格段の注意が必要である。CNIについてはTDMガイドラインで目標トラフ値，AUCが示されている。その一部を表1^{1,2)}に示す。

2. モノクローナル抗体

1) リツキシマブ(rituximab : RIT)

RITは，抗ヒトCD20ヒト・マウスキメラ抗体から成るモノクローナル抗体である(図3)。CD20は，ヒトPre-B～

表1 腎移植におけるCNIの目標血中濃度

	タクロリムス	シクロスポリン		
	トラフ値(ng/mL)	トラフ値(ng/mL)	C ₂ 値(ng/mL)	AUC ₀₋₄ (ng・hr/mL)
0～1カ月	8～15	150～250	1,000～1,200	3,000～3,500
1～3カ月	5～12	100～150	800～1,000	2,000～3,000
3カ月以後	5前後	<100	600～800	1,500～2,000

(文献1より引用)

Mature-B リンパ球表面に発現するマーカー蛋白であり(表 2), RIT は当初は CD20 陽性 B 細胞性リンパ腫に対する抗腫瘍薬として, 1991 年, 米国 IDEC Pharmaceuticals 社で開発された。RIT は CD20 陽性細胞の表面に結合したのち, 補体依存性細胞障害作用(complement dependent cellular cytotoxicity : CDC)ならびに抗体依存性細胞障害作用(antibody dependent cellular cytotoxicity : ADCC)によって標的細胞を破壊する。腎移植領域において, B 細胞性免疫による抗体関連型拒絶反応(antibody-mediated rejection : AMR)の制御は T 細胞性免疫に対する抑制同様にきわめて重要である。特にすでに自然抗体である抗 A 抗 B 抗体を獲得しているレシピエントに対する ABO 血液型不適合腎移植では, B 細胞性免疫をいかに制御するかが大きな課題であった。1983 年の Alexandre ら, 1989 年わが国の高橋らの原法では, 抗体産生細胞である B リンパ球, 形質細胞を多数含む脾臓摘出と血漿交換療法による抗体除去を行うことによって ABO 血液型不適合腎移植を可能としたが, 脾臓の手術侵襲の問題があった。抗 A 抗 B 抗体によって引き起こされ, 時に移植腎喪失につながる強烈な AMR は移植後 2 日目~3 週間以内, 特に 1 週間以内に集中的に発症する(critical period)こと, これ以降 AMR は起こりづらくなり(stable

period), 免疫学的順応(accommodation)が成立することが明らかになり, critical period における AMR 発症を効果的に抑制するためには, 術前の脱感作療法(desensitization therapy)がきわめて重要であるという概念が形成された。2001 年 Tyden ら³⁾, また, 2004 年われわれ⁴⁾は脱感作療法に RIT を用いることにより, 脾臓を行わずに ABO 血液型不適合腎移植を成功させる方法を開発, 確立した。献腎移植が極端に少なく生体腎移植が大部分を占めるわが国では, この脱感作療法併用・脾臓回避プロトコルは瞬く間に普及し, 近年では年間 300 例, 生体腎移植の 25% を ABO 血液型不適合移植が占めるようになり, そのうち約 8 割は脾臓回避, RIT 使用例である⁵⁾。

2011 年から ABO 血液型不適合腎移植・肝移植に対する適応拡大を目的とした臨床試験が行われ, 2016 年 2 月に正式に保険適用が承認された。手術前 2 週間以内に 1 回 375mg/m² を上限に最大 2 回まで MMF, CNI などとともに投与し, CD20 陽性 B-cell lineage depletion によって抗 A 抗 B 抗体産生を抑制する。施設によって, また前感作状態(抗 A 抗 B 抗体価)により脱感作プロトコルは異なるが, 概ね成人では 200mg/body 以上を投与することにより, 多くの症例で少なくとも末梢血における CD19, CD20 陽性細胞は速やかに 1.0% 以下となり, 数カ月以上その状態が保たれ, AMR を惹起させることなく, 移植腎生着を得ることが安定して可能になった。図 4 にわれわれの施設における ABO 血液型不適合腎移植に対する脱感作療法・免疫抑制療法プロトコルを示す。

2) バシリキシマブ (basiliximab : BSL)

BSL は IgG1 サブクラスに属する抗ヒト CD25 ヒトマウスキメラ型モノクローナル抗体である。CD25 は活性化 T 細胞表面に発現する IL-2 受容体 α 鎖であり, BSL は CD25 に IL-2 と競合的に結合し, 受容体へのシグナル伝達を阻害し細胞増殖を抑制する。CYA, TAC などの CNI は IL-2 の転写を抑制するが, これを逃れて産生された IL-2 の T 細胞への結合をも BSL が阻止するため, CNI との相乗的・相補的效果により T 細胞性免疫を効率的に抑制することが可能である。通常, 成人に対しては 1 回 20mg を, 体重 35kg 以下の小児に対しては 1 回 10mg を移植当日, 手術直前と術後 4 日目の計 2 回投与する。本抗体は Masking antibody であっ

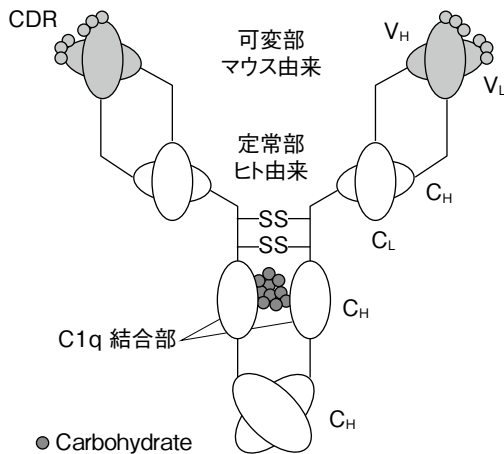


図 3 リツキシマブ構造模式図

CDR: 相補性決定領域, VH: 重鎖可変部, VL: 軽鎖可変部, CH: 重鎖定常部, CL: 軽鎖定常部, C1q: 補体第 1 成分(亜成分 q), carbohydrate: 糖鎖

表 2 B 細胞分化と CD20 の発現

	Stem cell	Early pre-B	Pre-B	Immature B	Mature resting B	Activated B	Plasma cell
CD20							

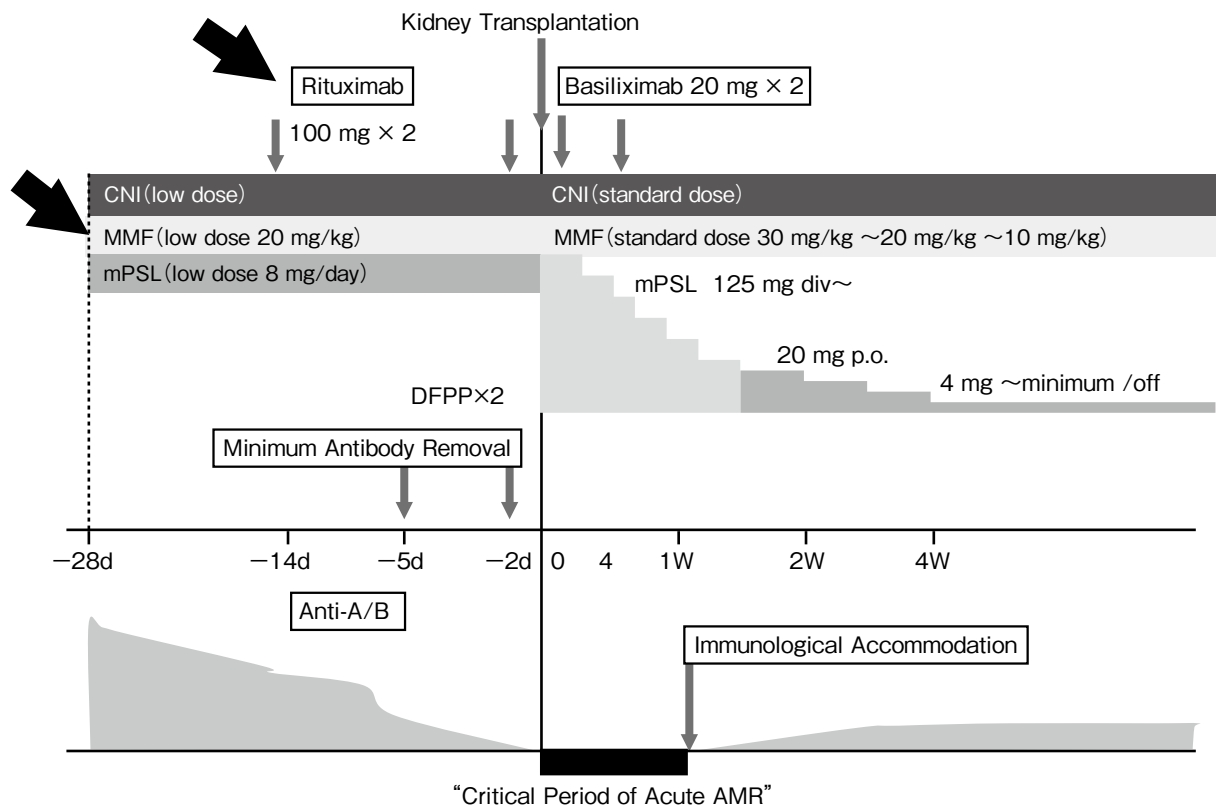


図4 新潟大学における ABO 血液型不適合腎移植に対する脱感作療法・免疫抑制療法プロトコール

て Depleting antibody ではないが、上記 2 回投与により移植後約 1 カ月半の間、CD25 陽性活性化 T 細胞の出現を抑制することにより急性拒絶反応の発症を従来の約 1/3 に減少させることが可能となった。現在、わが国では腎移植の導入免疫抑制薬としてほぼ全例に使用されている。比較的多い副作用として、血管透過性の亢進による腸管浮腫、腹水の出現を伴う血圧低下が初回投与後の手術中に起こることがしばしば経験される。多くは膠質液を含む輸液と昇圧薬投与で回復するが、この場合 2 回目の投与は控える。CNI, MMF, ステロイドとの併用で昨今の腎移植症例における術後急性拒絶反応の頻度はほぼ 20% 以下に抑制されており⁶⁾、拒絶反応発症例においてもその重症度は軽減している。

3. mTOR 阻害薬

1) エベロリムス (everolimus : EVL)

EVL は、1992 年にスイス、ノバルティスファーマ社でシロリムスの誘導体として合成されたマクロライド系免疫抑制薬・抗腫瘍薬である(図 5)。1993 年から非臨床試験が、1996 年から臨床試験が開始され、2003 年 7 月にスウェーデンで心移植および腎移植に承認され、現在では米国、EU な

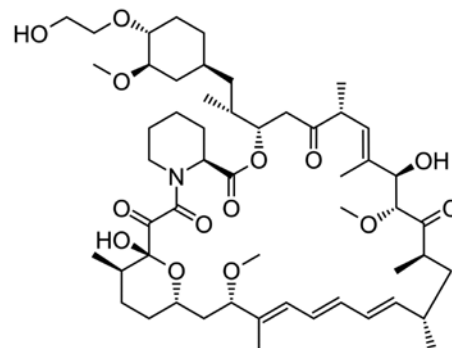


図5 エベロリムス

ど世界中で使用されている。わが国でも 2007 年 1 月に心移植、2011 年に腎移植に対する保険適用が承認された。

EVL は TAC 受容体でもある細胞内結合蛋白の FKBP-12 (FK-506 binding protein-12) と複合体を形成し、細胞周期の G1 期から S 期への誘導に関与する主要な調節蛋白である mTOR (mammalian target of rapamycin) に結合して細胞増殖シグナルを阻害し、T 細胞、B 細胞および血管平滑筋細胞の増殖を抑制する。EVL は mTORC1 にのみ作用し、

mTORC2には影響しない。mTORC1のネガティブフィードバックはAKTキナーゼを活性化し、かつmTORC2を阻害しないため、ポジティブフィードバックが起こりAKTを活性化する。このAKTの活性化はある種の細胞をアポトーシスへ導く。

EVLは*in vitro*でIL-2およびIL-15によるヒトCD4陽性T細胞の増殖、IL-6依存的マウスB細胞ハイブリドーマ株の増殖、ウシ胎児血清によるウシ血管平滑筋細胞の増殖に対する抑制効果が確認され、マウスおよびヒトの混合リンパ球反応(MLR)を阻害し、同種抗原により誘導されるT細胞増殖反応を抑制する一方、マウスの抗SRBC抗体産生B細胞の増殖を抑制し、*in vivo*でもA型またはB型肝炎ワクチンを接種したカニクイザルにおいて抗体価の上昇を抑制するなど、T細胞性、B細胞性免疫を広く抑制する。

ラットおよびカニクイザルの同種腎移植モデルにおいて移植片の生着期間を延長させ、さらにラットの同種および同系大動脈移植モデルにおいて移植血管の新生内膜肥厚を抑制するなど、慢性拒絶反応抑制効果、動脈硬化、線維化に対する抑制作用も確認されている。

腎移植におけるエベロリムス使用の実際

腎移植後の免疫抑制療法としては、通常、成人にはEVL 1.5mgを1日2回に分けて経口投与する。CNIなどと同様、食事の影響を避けるため、食後または空腹時のいずれかの一定の条件下で投与し、血中トラフ濃度を測定し、投与量を調節する。本剤の用量調節は、投与開始もしくは用量変更から4～5日以上経過してから測定したトラフ濃度に基づいて行う。血中トラフ濃度が3.0 ng/mL以上の患者では、3.0 ng/mL未満の患者に比べて急性拒絶反応の発現率が低いことが認められており、推奨されるトラフ濃度は5.0～8.0 ng/mLである^{7,8)}。

わが国の国内第III相臨床試験(A1202試験)では、CYAとの併用療法における有効性と安全性が検討された。新規成人腎移植患者122症例を対象に、移植後12カ月間での効果と安全性についてEVL群とMMF群の2群で比較している。EVL群ではEVL1.5 mg/日1日2回内服+低用量CYA+ステロイド+BSL(20 mg×2回, 0, 4日目)で導入、EVLトラフ濃度を3～8 ng/mLを目標に内服量を調整し、CYAのトラフ濃度は5日以降100～200 ng/mL、2カ月以降75～150 ng/mL、4カ月以降50～100 ng/mL、6カ月以降25～50 ng/mLを目標に調節する。MMF群ではMMF 2gで開始し、標準量CYA+ステロイド+BSL(20 mg×2回, 0, 4日

目)で導入する。MMF群のCYAトラフ濃度は5日以降200～300 ng/mL、2カ月以降100～250 ng/mLを目標に調節する。つまりCYAの目標トラフ値はEVL群ではMMF群の約50%以下に設定された。

各群61例が割付けられ、移植腎廃絶・死亡は両群ともに0、治療を要する急性拒絶反応はEVL群3例(4.9%)、MMF群5例(8.2%)、脱落例がそれぞれ4例(6.6%)、2例(3.3%)であり、12カ月間における拒絶反応・移植腎廃絶率は両群ともに7例(11.5%)であった。移植腎機能は、eGFR(MDRD, mL/分/1.73m²)でEVL群6カ月61.20±19.87、12カ月62.09±18.99、MMF群6カ月56.07±14.58、12カ月56.34±15.23であり、EVL群がやや良好であった。副作用は、EVL群で高脂血症が42.6%とMMF群の27.9%より多かったが、サイトメガロウイルス(CMV)感染は34.4% vs 4.9%と、EVL群で特にCMV感染の頻度が低かった。さらにEVL群では口内炎や蛋白尿、高脂血症が比較的高頻度に認められたが、口内炎は口腔内衛生を徹底することで頻度と重症度は軽減する。間質性肺炎や創の離解、リンパ腫などの重篤な副作用は認められなかった。

蛋白尿は軽度で一過性、あるいはアンジオテンシン変換酵素阻害薬の使用により軽快することが多いが、再発性腎炎や慢性糸球体腎症などで器質的腎障害の結果、尿蛋白が陽性化している症例では投与によって蛋白尿が増加する場合があります、注意が必要である。

EVLは従来の標準量よりも低用量のCYAとの併用で同等の拒絶反応抑制効果が得られることから、CNIの弱点であった急性腎毒性の軽減効果が期待され、さらに線維芽細胞、平滑筋細胞に対する強力な増殖抑制効果と相まって、慢性毒性の軽減ならびに尿細管上皮細胞の萎縮、間質線維化病変の抑制効果が期待されている。実際、短期の経過観察では移植腎機能(eGFR, CCr)の改善効果が認められている。

今後、長期にわたるCNI毒性の回避とIF/TAの軽減にEVLがどの程度寄与できるのかが注目される。

CYAはEVLのバイオアベイラビリティを向上させて血中濃度を上昇させる。EVLとの併用によってCYAの薬物動態が変化しており、実臨床ではTDMによるコントロールが必須である。一方、TACとの相互作用はきわめて軽微とされており、TAC/EVL併用プロトコールにおける臨床効果と至適投与量、TDMについては今後の症例の蓄積が必要である。

Langerら⁹⁾は、ASSET studyにおいて低濃度TAC(C0:4～7 ng/mL)+EVL+BSL+ステロイドで導入し、3カ月後

にそのままの免疫抑制療法で維持する TAC Dose (LowTAC) 群 119 例と TAC を減量する Very Low TAC (VLT) 群 109 例 (C0: 1.5 ~ 3.0 ng/mL) を比較検討した。EVL の目標トラフ値は両群ともに 3 ~ 8 ng/mL, 12 カ月後の TAC の平均トラフ値は前者 5.5, 後者 3.4 であった。MDRD 式による eGFR は VLT 群のほうが 5.34 mL/分/1.73m² 良好であったが, 統計学的有意差は認められなかった。

また, EVL は腎細胞癌をはじめとする悪性腫瘍に対する抗腫瘍薬としても承認されており, 移植患者においても移植前悪性腫瘍罹患・治癒症例や移植後 *de novo* 発癌症例への治療後の再発抑制効果も期待されている。

おわりに

腎移植領域における分子標的治療薬について, CNI, BSL, RIT, mTOR 阻害薬である EVL を中心に述べた。腎移植領域においては以前から CNI を中心に, 厳密な TDM と薬物相互作用に配慮した投与設計が日常的に行われてきた。分子標的治療薬の作用機序からみて, 最大限の効果を引き出し, 副作用を最小限にとどめるために有用な方法である。海外では共刺激遮断による選択的 T 細胞阻害薬 Belatacept が実用化されている一方, 抗体産生細胞である Plasma cell を標的としたプロテアソーム阻害薬である Bortezomib を用いた抗ドナー HLA 抗体 (DSA) 陽性 AMR に対する治療法など, 今後も分子標的治療薬の臨床応用・開発が進むと思われる。より選択的で効果の高い免疫抑制療法が更なる移植腎生着率と患者生存率の向上に資することを願って止まない。

利益相反自己申告: 申告すべきものなし

文献

1. 日本 TDM 学会・日本移植学会(編). 免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドライン 2014【臓器移植編】. 東京: 金原出版, 2014.
2. 増田智先, 佐藤 滋, 谷川原祐介, 湯沢賢治, 高原史郎. 免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドライン 2014 の策定. 移植 2014; 49(6): 384-392.
3. Tyden G, Kumlien G, Fehrman I. Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. Transplantation 2003; 76: 730-731.
4. Saito K, Nakagawa Y, Suwa M, Kumagai N, Tanikawa T, Nishiyama T, Ueno M, Gejyo F, Nishi S, Takahashi K. Pinpoint targeted immunosuppression: anti-CD20/MMF desensitization with anti-CD25 in successful ABO-incompatible kidney transplantation without splenectomy. Xenotransplantation 2006; 13: 111-117.
5. 齋藤和英, 高橋公太. ABO 血液型不適合移植の新戦略 2014 わが国における ABO 血液型不適合腎移植の統計調査 2013. 今日の移植 2014; 27: 124-136.
6. Schwarz C, Böhmig G, Steininger R, Unger L, Kristo I, Kozakowski N, Berlakovich GA, Soliman T, Mühlbacher F. Tacrolimus, mycophenolate mofetil, and low-dose steroids with or without interleukin-2 receptor antibody induction therapy: a retrospective cohort analysis. Transplant Proc 2015; 47: 2446-2449.
7. Vitko S, Margreiter R, Weimar W, Dantal J, Kuypers D, Winkler M, Øyen O, Viljoen HG, Filiptsev P, Sadek S, Li Y, Cretin N, Budde K; RAD B201 Study Group. Three-year efficacy and safety results from a study of everolimus versus mycophenolate mofetil in *de novo* renal transplant patients. Am J Transplant 2005; 5: 2521-2530.
8. Uchida K, Hoshinaga K, Watarai Y, Goto N, Kusaka M, Sasaki H, Hirano M; A1202 PK Study Group. Pharmacokinetics of everolimus when combined with cyclosporine in Japanese *de novo* renal transplant recipients. Transplant Proc 2014; 46: 1314-1318.
9. Langer RM, Hené R, Vitko S, Christiaans M, Tedesco-Silva H Jr, Ciechanowski K, Cassuto E, Rostaing L, Vilatoba M, Machein U, Ulbricht B, Junge G, Dong G, Pascual J. Everolimus plus early tacrolimus minimization: a phase III, randomized, open-label, multicentre trial in renal transplantation. Transpl Int 2012; 25: 592-602.