

24)S.Matsumoto,et al.	Improvement of pancreatic islet cell isolation for transplantation	Proc (Baylor Univ Medical Center)	20(4)	357~362	2007
-----------------------	--	-----------------------------------	-------	---------	------

#### IV. 研究成果の刊行物・別冊

## 5. 膵臓移植と膵島移植

寺岡 憲

東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 外科, 同 先端生命医科学研究所 代用臓器学

### 最近の動向

我が国における糖尿病患者数は増加しつつあり、糖尿病性腎不全のために透析療法に導入される患者数も増加の一途を辿っている。糖尿病透析患者においては、糖尿病合併症に加えて腎不全 / 透析合併症が進展し、その生命予後は不良であり、患者の Quality of Life (QOL) は著しく損なわれる。欧米においては糖尿病透析患者に対して膵腎複合移植 (CPK) が積極的に実施され、糖尿病性腎不全に対する根治的療法としてすでに定着している<sup>1)</sup>。また、長年低迷してきた膵島移植の成績も、Edmonton protocol に基づいた膵島移植が多施設において試みられている<sup>2)</sup>。我が国においては臓器の移植に関する法律 (臓器移植法) の施行以来、44 例の CPK が実施され<sup>3, 4)</sup>、さらに最近では生体ドナーからの膵部分移植も少数例ながら実施されている。また膵島移植も開始され<sup>5)</sup>、ようやく我が国においても糖尿病および糖尿病腎不全に対する治療上の選択肢が拡がりつつある。本稿では膵・膵島移植の最近のトピックスについて概説する。

### 膵臓移植

#### 1. 最近の欧米における動向

ここ数年間においては膵臓摘出法、保存法、移植法などの手技については大きな変化は認められないが、移植件数が増加しないこと、膵移植に利用される確率が低いことが問題となっている。米国においては1988年の930例をピークに膵腎同時提供の件数は頭打ちとなっており、866~908件で推移している<sup>6)</sup>。2005年度の全膵摘出件数は2034件であり、膵腎同時移植 (SPK) が896件、腎移植後膵移植 (PAK) が343件、膵単独移植 (PTA) が129件実施されている。膵移植全体としては前年の1429件から1368件と減少している<sup>1)</sup>。死体ドナー (Deceased Donor; DD) 自体は1999年の8042例から2005年の9914例へと年々増加しているが、ドナー年齢が徐々に高齢化していること、そのためもあって膵臓が摘出される確率が35%と (2005年度) 低いことがその要因となっている<sup>7)</sup>。一般にDDは脳死ドナー (Donors after Brain Death; DBD) と心停止ドナー (Donors after Cardiac Death; DCD) とに大別され、DBDのうち年齢が60歳以上かあるいは50~59歳で高血圧の既往、

- 1) Andreoni KA, Brayman KL, Guidinger MK et al : The 2006SRTR report on the state of transplantation : kidney and pancreas transplantation in the United States. *Am J Transplant* 7 : 1359-1375, 2007
- 2) Shapiro AM, Ricoldi C, Hering BJ et al : International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 355 : 1318-1330, 2006
- 3) 伊藤壽記 (膵・膵島移植研究会登録委員会) : 本邦膵移植症例登録報告 (2007). *移植* 42 : 433-438, 2007
- 4) Ishibashi M, Ito T, Sugitani A et al : Present status of pancreas transplantation in Japan—Donation predominantly from marginal donors and modified surgical technique : Report of Japan Pancreas Transplant Registry. *Transplant Proc* (in press)
- 5) 後藤満一, 斉藤拓朗 (膵・膵島移植研究会膵島移植班事務局) : 膵島移植症例登録報告 (2007). *移植* 42 : 439-447, 2007
- 6) Punch JD, Hayes DH, Laporte AM et al : The 2006 SRTR report on the state of transplantation : organ donation and utilization in the United States, 1995-2005. *Am J Transplant* 7 : 1327-1338, 2007

血清クレアチニン値 1.5mg/dL 以上、脳卒中による死亡という危険因子の2項目以上を満たす場合 Expanded Criteria Donor (ECD) と定義され、それ以外が Standard Criteria Donor (SCD) と定義されている<sup>1)</sup>。SCD は 1999 年の 6680 例 (85.1%) から 2005 年の 7554 例 (76.2%) へと徐々に減少しつつある。さらに DD のうち DCD も、1999 年の 144 例から 2005 年の 751 例に増加しつつある<sup>7)</sup>。

摘出された臓臓のうち実際に移植される臓臓はさらに少なく、2000 年から 2005 年で全 DD の 19~21% を推移している。全 DD の 0.9% は臓臓移植に使用されているが、2% が廃棄されている。2000~2005 年の統計では臓臓移植のドナーの 34% が 18 歳未満、39% が 18~40 歳、13% が 41~50 歳であるが、51~55 歳が 4%、56~60 歳が 1% と激減する。またドナーの Body Mass Index (BMI) も重要な因子であり、28kg/m<sup>2</sup> 未満が 26%、28~30kg/m<sup>2</sup> が 15%、30~35kg/m<sup>2</sup> が 11%、35~40kg/m<sup>2</sup> が 6%、それ以上が 6% となっている<sup>7)</sup>。提供の同意が得られているにもかかわらず臓臓が摘出されない理由については、36% が臓臓機能の低下、17% が既往歴の問題とされている<sup>1)</sup>。以上より、Organ Procurement Transplant Network (OPTN) は 2005 年 2 月に 50 歳以上で BMI が 30kg/m<sup>2</sup> 以上のドナーで当該エリアで移植されない場合は、臓臓移植のために配分される規定に変更した<sup>6)</sup>。また SPK を希望して待機リストに登録されている候補者の半数以上は 4 年以内に死亡するとされ、また 1 型糖尿病で SPK を実施された患者の生存率は、死体腎移植のみを実施された患者の生存率より優れているため、DD からの臓臓は SPK 待機患者に優先的に配分されている<sup>1)</sup>。

臓臓移植の成績については、1 年および 5 年患者生存率は SPK でそれぞれ 95.1%、85.8%、PAK でそれぞれ 95.5%、83.6%、PTA でそれぞれ 94.9%、90.2% とされている<sup>8)</sup>。また SPK における移植臓臓および移植腎の生着率は 1 年でそれぞれ 85.2%、91.8%、5 年でそれぞれ 71.1%、75.3% とされている<sup>8)</sup>。さらに PAK、PTA の 1 年および 5 年生着率は PAK でそれぞれ 78.7%、56.4%、PTA でそれぞれ 72.8%、53.4% とされており、短期および長期の生着率は SPK が優れている<sup>8)</sup>。Gruessner らは 500 例の PTA の成績について解析し、これまで懸案であった 1 年および 5 年生着率が近年向上しつつあること、腎不全の累積発症率が移植後 5 年で 13% であり、その危険因子は移植時年齢 30 歳未満、移植時の血清クレアチニン値が 1.5mg/dL 以上であるとし、tacrolimus (Tac) あるいは抗 T 細胞抗体の使用、移植時年齢 45 歳以上、女性ドナー、保存時間 24 時間未満、HLA-B 適合、cytomegalovirus (CMV) 感染が無いこと、膀胱吻合の選択が良好な生着率に影響するという興味深いデータを報告している<sup>9)</sup>。ただし CMV 感染については臓臓移植の成績に影響しないとする報告もある<sup>10)</sup>。

臓臓移植に使用される免疫抑制薬については、SPK で 89%、PAK で 85%、PTA で 92% に Tac が使用されている。また SPK で 81%、PAK で 83%、

7) Marks WH, Wagner D, Pearson TC et al : The 2005 SRTR report on the state of transplantation : organ donation and utilization, 1995-2004 ; entering the collaboration era. Am J Transplant 6 : 1101-1105, 2006

8) Port FK, Merion RM, Finley MP et al : Trends in organ donation and transplantation in the United States, 1995-2005. Am J Transplant 7 : 1319-1326, 2007

9) Gruessner RWG, Sutherland D, Kandaswamy R et al : Lesson learned more than 500 pancreas transplants alone at a single institution. Am J Transplant 7 (suppl 2) : 249 (#393), 2007

10) Rayes N, Seehofer D, Kahl A et al : Long-term outcome of cytomegalovirus infection in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients without gancyclovir prophylaxis. Transplant International 20 : 974-981, 2007

PTAで58%にTacとmycophenolate mofetil (MMF)が併用されている<sup>11)</sup>。維持療法としてのステロイド剤の併用の頻度は、SPKで71%、PAKで67%、PTAで52%と減少しつつある<sup>11)</sup>。導入期の併用薬剤としてはSPK (steroid-free群)の65%がThymoglobulin, 21%がalemtuzumab, 4%が抗CD25受容体 $\alpha$ 鎖単抗体(basiliximab, daclizumab)を投与されているが、ステロイド併用群ではそれぞれ46%、12%、4%となっている<sup>11)</sup>。特にMuthusamyらはalemtuzumab, Tac, MMFを併用するsteroid-free regimenで短期の観察期間(5ヵ月)ではあるが、患者生存率96%、移植生着率87%、移植腎生着率93%、拒絶反応の発生率14%、polyomavirusおよびCMV感染発症率がそれぞれ2.8%、7.1%という良好な成績を報告しており、より長期の成績が注目される<sup>11)</sup>。

Barthらは死体膵移植の際に同時に生体腎移植を実施し(SPLK)、1年および生着率が移植膵でそれぞれ81%、75%、移植腎でそれぞれ94%、85%という、SPKに匹敵する成績を報告している<sup>12)</sup>。Salvalaggioらは45歳未満のドナーからのSPK5661例と45歳以上のドナーからのSPK493例について比較検討し、移植腎および移植膵のAdjusted Hazard Ratio (AHR)が後者でそれぞれ1.44、1.29と高かったが、予測生存期間については前者で13.8年、後者で12.9年であり、移植待機患者の4.7年と比較して有意に優れていたとし、高齢者ドナーからのSPKを積極的に行うべきと報告している<sup>13)</sup>。従来膵移植の適応は1型糖尿病と規定されていたが、Kimらは55歳未満、BMI 30kg/m<sup>2</sup>未満でインスリン依存性の2型糖尿病患者に対してSPKを行い、患者生存率100%、移植膵生着率82%という成績を報告し、2型糖尿病であっても患者選択を適正に行えば治療効果が得られるという注目すべき報告を行っている<sup>14)</sup>。

膵移植においては拒絶反応の早期かつ特異的な診断法が存在しないことが最大の問題とされ、特にPTAの成績が相対的に良好でないことの要因とされてきたが、RogersらはPTA後protocol biopsyを実施して、subclinicalな拒絶反応の診断・治療を行い、生存率100%、1年および3年生着率それぞれ89%、85%という良好な成績を報告している<sup>15)</sup>。ちなみに生検に伴う合併症は皆無であったとしている。

## 2. 我が国における現況

1997年の臓器移植法の施行に伴って、1999年に新しい配分ルールが策定され、SPKの実施が可能となった。この新しい膵移植レシピエント選択基準に基づいて、2007年末までに44例の膵移植が実施された<sup>3, 4)</sup>。このうち42例が脳死ドナーからのCPKであり、2例が心停止ドナーからのSPKであった。44例のCPKのうち、36例がSPKで、8例がPAKであった。患者生存率は100%であり、移植膵の生着率は1年で91.7%、5年で80.2%、移植腎の生着率は1年および5年で90.6%であった<sup>4)</sup>。移植膵機能廃絶の原因は移植膵血栓形成

- 11) Muthusamy ASR, Roy D, Elker DE et al : alemtuzumab induction ant steroid-free immunosuppression in Pancreas transplantation. Am J Transplant 7 (suppl 2) : 251 (#401), 2007
- 12) Barth RN, Schweitzer EJ, Cooper M et al : Simultaneous pancreas living donor kidney transplantation provides superior 5-year results as compared to simultaneous pancreas kidney transplantation. Am J Transplant 7 (suppl 2) : 250 (#398), 2007
- 13) Salvalaggio PR, Schnitzler MA, Takemoto SK et al : simultaneous pancreas kidney transplantation from older donors : an under-utilized strategy to expand life survival. Am J Transplant 7 (suppl 2) : 250 (#396), 2007
- 14) Kim KW, Selby R, Mateo R et al : Simultaneous kidney-pancreas transplantation for type 2 diabetes mellitus : single center experience. Am J Transplant 7 (suppl 2) : 250 (#397), 2007
- 15) Rogers J, Iskandal S, Farney A et al : Surveillance pancreas biopsies in solitary pancreas transplantation : a shot indark? Am J Transplant 7 (suppl 2) : 251 (#400), 2007

2例(移植直後), 移植十二指腸穿孔1例(移植後2年), 慢性拒絶反応1例(移植後3年), 原因不明1例(移植後4年)であった<sup>3, 4)</sup>.

2004年以来生体部分膵移植が開始され<sup>16)</sup>, 2007年末までに3例の血液型不適合移植を含む総計14例が実施されている。その内訳はSPK10例, PAK1例, PTA3例であった。そのうち2例において移植後6ヵ月後, 2年7ヵ月でインスリン再開となり, PAKの1例で膵移植後2ヵ月後に透析再導入となっている。

今後の課題としては臓器提供の増加であり, そのためには臓器移植法の改正が不可欠であろう。

また長期成績のさらなる向上には, より有効な免疫抑制法の開発が不可欠であり, Jak3阻害薬, PKC阻害薬, belataceptなどの分子標的治療薬が開発され, 今後の臨床膵移植への導入が待たれる<sup>17)</sup>。またドナー骨髄移植による中枢性寛容の導入<sup>18)</sup>, 調節性T細胞の誘導などによる末梢性免疫寛容の導入なども, 今後の臨床応用が期待される。短期成績の向上には, 膵 viability 評価法の開発, 移植膵血栓形成機序の解明とその防止策の開発, 拒絶反応の特異的診断法の開発などが今後の課題と考えられる。

## 膵島移植

### 1. 欧米における現況

2000年にShapiroらによりdaclizumab, sirolimus (SRL)に低用量のTacを加えたsteroid-free regimenによる良好な成績が報告されて以来, このEdmonton protocolを用いた膵島移植が積極的に行われるに至った。しかしインスリン離脱までには平均2~3回の膵島移植を要すること, その後のより多数例の長期観察においては, インスリン離脱は移植後3年で31%, 5年で75%にすぎず, 平均HbA<sub>1c</sub>は6.7(6.1~6.7)%と比較的高めであったが, 80%以上において長期にわたりCPRの分泌が認められ, 血糖コントロールは安定し, 低血糖発作の頻度も減少している。上記のprotocolに基づいた国際的な多施設共同試験が実施され, 36例に77回の膵島移植が行われた。そのうち21例(58%)がインスリン離脱を果たしたが, 16例(76%)が2年後にはインスリン再開となった。その時点において70%にCPRの分泌が認められたと報告されている<sup>2, 19)</sup>。

2007年3月膵島分離に不可欠なLiberaseの製造工程において, その強化培地にウシ脳抽出物が添加されていることが判明し, Liberaseを用いた分離膵島の移植は中断された。その後欧米においてはServa社のcollagenaseを用いて膵島移植が再開されている。また異種膵島の移植の試みも報告され, 今後の展開が期待される<sup>20)</sup>。

### 2. 我が国における現況

これまでに65件(脳死下提供:1件, 心停止下提供:64件)の膵島分離が

16) 剣持 敬: 生体膵臓移植. 移植 42: 514-522, 2007

17) 寺岡 慧: 免疫抑制薬の動向—分子標的治療薬. 移植 41: 292-304, 2006

18) Kawai T, Cosimi ABC, Sachs D et al: HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. N Engl J Med 358: 353-361, 2008

19) Multicenter trial of the Edmonton protocol for islets transplantation. ImmuneToleranceNetwork. <http://www.med.uni-giessen.de/itr/ITN/itr.html>

20) Hering BJ, Wijkstrom M, Graham ML: Prolonged diabetes reversal after xenotransplantation of wild-type porcine islets in immunosuppressed nonhuman primates. Nat Med 12: 301-303, 2006

行われ、18例に34回の膵島移植が実施されている(3回6例, 2回4例, 1回8例)。移植された膵島については、膵島収量19.6~88.6万(平均53.3万)IEQ, 純度30~80%, 温阻血時間0~35分, 冷阻血時間180~688分であり、全例とも門脈内に移植された。免疫抑制法は基本的にはEdmonton protocolに準拠しているが、症例によってはdaclizumabをbasiliximabに変更し、適宜MMFを追加、ないしSRLに換えてMMFを投与している。移植直後1例で腹腔内出血が認められた。3回移植された2例のうち1例と2回移植された3例のうち1例はインスリン離脱に至っているが、全例1年以内にインスリン再開となっている。他の15例はインスリン離脱には至っていない。しかし膵島移植によりインスリン投与量の減量(33→22U), HbA<sub>1c</sub>の改善(7.8→6.7%), 低血糖の頻度の減少など血糖安定化が得られている<sup>5)</sup>。

膵島移植の最大の課題は、究極的な目標であるインスリン離脱を1-donor/1-recipientで実現すること、さらに長期成績の改善であろう。移植された膵島の50~70%は虚血、炎症性サイトカイン、活性酸素種などによって移植後早期にapoptosisに陥ると推定され、1回の膵島移植でインスリン離脱が得られない最大の要因と考えられている。 $\alpha_1$ -antitrypsin投与、VEGFあるいはcytoglobinの誘導、グルタミン膵管内注入、種々のサイトカイン阻害薬などが試みられている。Yasunamiらは抗IL-6R抗体の投与により移植後早期の膵島傷害を防止できると報告している<sup>21)</sup>。長期の移植膵島機能の廃絶の機序については、免疫学的因子(拒絶反応, 自己免疫など)、再生不全などが想定されるが詳細は不明である。iPS細胞、骨髄幹細胞あるいは肝幹細胞、腸管上皮幹細胞などから $\beta$ 細胞への誘導と移植、免疫寛容の導入によりこれらの問題は克服される可能性がある。

2007年3月にLiberaseの製造工程にウシ脳抽出物が使用されていることが判明し、膵島移植が中断されたことについてはすでに触れた。膵・膵島移植研究会としては、これまでに膵島移植を受けた患者のCreutzfeldt-Jakob病専門医への受診、検査、カウンセリング等を保障しつつ、ヒトプリオンknock-inマウスを用いたbioassayにより、これまでに使用されたLiberaseの安全性の確認に努めている。現在新しいLiberaseのパイロットサンプルを入手して評価を行っているが、本年8月末には完全にmammalian-freeでGMP-gradeのLiberaseが市販される見通しであり、膵島移植の再開が待たれる。

## おわりに

膵および膵島移植の概要と現況について概説した。膵・膵島移植は本来、糖尿病による合併症を予防し、QOLを改善することを目的とするが、長期的には生存率の改善をも目指すものといえる。膵・膵島移植は条件さえ選ばば心停止ドナーからでも可能であり、今後我が国においても糖尿病治療法の一つとしてその普及が期待される。

- 21) Ito T, Matsuoka N, Yasunami Y et al : Successful islet transplantation from one donor to one recipient by targeting IL-6/IL-6 receptor signaling in mice. Xenotransplantation 14 : 493 (PK1100), 2007

# 1. 免疫抑制薬としての分子標的治療薬

東京女子医科大学腎臓外科教授 寺岡 慧  
同 先端生命医科学研究所代用臓器学教授

**key words** immunosuppressant, signal transduction, belatacept, Jak3 inhibitor, PKC inhibitor

## 動 向

近年の分子生物学の進歩はめざましく、免疫応答における分子メカニズムが解明され、特に細胞膜表面における表面マーカーの同定とその役割、細胞内シグナル伝達、これらを選択的に阻害する免疫抑制薬の作用機序などが分子レベルで解明された。それとともに表面マーカーあるいはシグナル伝達に参与する分子を標的とした新しい免疫抑制薬が開発されつつある。また自己免疫疾患においても、その発症・進展にかかわる分子を特異的に標的とした薬剤が開発されつつある。さらに悪性腫瘍の領域においても、従来の抗癌剤は標的細胞の選択性に欠けるため副作用が多かったが、近年癌の発生・増殖メカニズムが分子レベルで解明されるとともに、癌の発生・増殖に関連した特定の分子構造のみを特異的に標的として作用する薬剤が開発されつつある。これらの疾患に関連する特定の分子構造を標的としてスクリーニングないし分子設計により創薬された治療薬を分子標的治療薬と総称する。一般に分子標的治療薬の標的分子には、エピジェネティクス (DNAメチル化, ヒストン修飾), 細胞内シグナル伝達系構成蛋白, 細胞膜表面抗原, さらに細胞周期関連分子, アポトーシス関連分子などがあげられる。また分子標的治療薬の性状からは、低分子化合物, 核酸 (ア

ンチセンスオリゴヌクレオチド), 蛋白製剤 (モノクローナル抗体, 合成IgG蛋白) に大別される。

臓器移植における免疫応答においては抗原提示細胞, T細胞およびB細胞が中心的な役割を演じる。免疫抑制薬としての分子標的治療薬は、これらの免疫担当細胞の表面抗原あるいは受容体を標的とするもの、および細胞内シグナル伝達を担う特定の分子を標的とするもの、さらに細胞周期調節薬などに大別される。本稿では臓器移植における分子標的免疫抑制薬について概説する。

## A. 抗原認識とT細胞内シグナル伝達

### 1. 免疫シナプスの形成と抗原認識 (図1)

免疫シナプスの形成は、最近ヒト樹状細胞において同定されたDC-SIGN (dendritic cell-specific, ICAM-3-grabbing nonintegrin) とT細胞上のICAM-3の結合によって開始されると想定されている。引き続いてICAM-1 (CD54) とLFA-1 (CD11a, 18) の結合が起こり、樹状細胞とT細胞が接着する。樹状細胞上のDC-SIGNはICAM-3に高親和性を示し、ナイーブT細胞上のICAM-3に結合してLFA-1を活性化させICAM-1への結合性を高めると推定されている。その後LFA-3 (hCD58, mCD48) とCD2, CD80/86とCD28



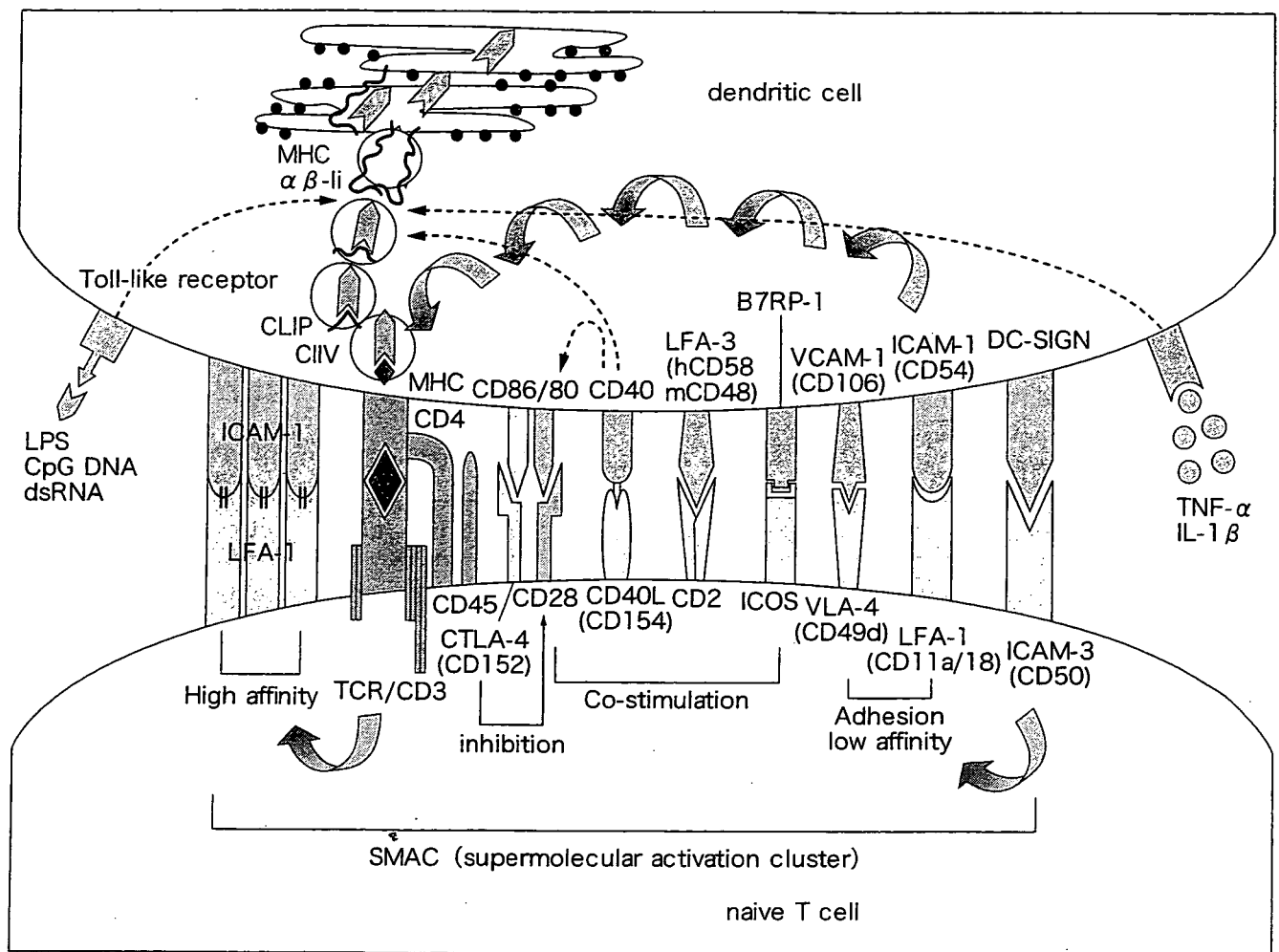


図1

が結合し、引き続きMHC class II/抗原ペプチドとTCR/CD3/CD4の周辺にCD45, LFA-1などが集合し、ICAM-1/LFA-1の高親和性結合、さらに微小管、アクチンなど細胞骨格の再構成によって免疫シナプス (supermolecular activation cluster: SMAC) が形成される<sup>1,2)</sup>。この過程における膜蛋白の移動、集積には細胞膜マイクロドメイン (リピッドラフト) が重要な役割を演じており、その細胞膜内側にはチロシンキナーゼ、アダプター蛋白が局在している。

リポ多糖, CpG DNA, dsRNAなどの細菌, ウイルス産物のToll-like receptorを介した刺激, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ などの炎症性サイトカイン, CD40/CD40L (CD154) 結合などの刺激により, 樹状細胞表面のMHC class IIは5~20倍に,

CD86は約100倍に増加する。

## 2. T細胞内シグナル伝達 (図2)

### a. TCR/CD3シグナルの伝達

TCR/CD3/CD4/8を介したシグナル (signal 1) はprotein tyrosine kinases (PTKs) の活性化に始まり, Ca<sup>2+</sup>-calcineurin経路, Ras-Erk経路, プロテインキナーゼC (PKC) 経路を介して伝達され, NFAT, AP-1 (Jun/Fos), NF- $\kappa$ Bなどの転写因子を活性化する。この結果IL-2などのサイトカインが産生・放出され, オートクリン, パラクリンにT細胞に作用して活性化する。

TCR/CD3複合体, CD4が樹状細胞上に提示された抗原ペプチド/MHC class IIに結合すると, TCRと抗原ペプチドとの結合を強化するととも

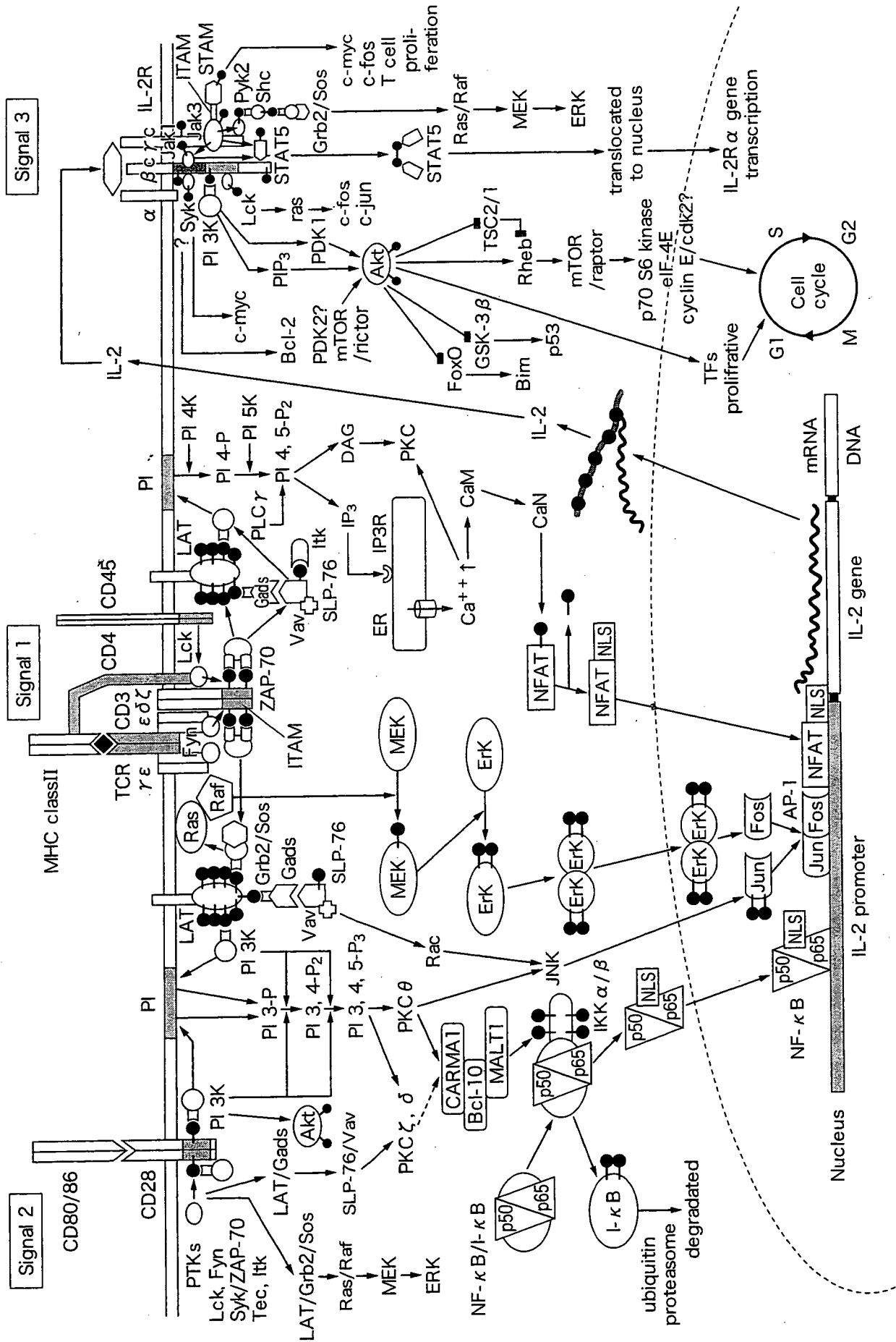


図 2

にCD4およびその細胞内ドメインに結合したp56<sup>lck</sup> (Lck)がTCR/CD3複合体に引き寄せられ、Lckはその標的であるCD3の $\zeta$ 鎖のITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)に近接する<sup>2,4)</sup>。膜貫通蛋白でチロシンホスファターゼ活性を有するCD45がLckを脱リン酸化することによりその触媒ドメインが露出しLckは活性化する<sup>5)</sup>。活性化Lckにより $\zeta$ 鎖のITAMがリン酸化される。CD3の $\epsilon$ 鎖に結合しているp59<sup>fyn</sup> (Fyn)も同様に脱リン酸化によって活性化され、CD3の $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ 鎖上のITAMがリン酸化される。リン酸化されたITAMは細胞質チロシンキナーゼであるp70<sup>ZAP</sup> (ZAP-70)のSH2 (src homology 2)ドメインに結合し、ZAP-70はリン酸化されて活性化する。ZAP-70は膜貫通アダプター蛋白であるLAT (linker for activation of T-cells)のチロシン残基をリン酸化する<sup>2,4)</sup>。次にPLC $\gamma$ , PI 3-キナーゼ (PI 3K)のサブユニットp85, アダプター分子Grb2/Sos複合体などがSH2ドメインを介してLATに結合する<sup>2,4)</sup>。

PLC $\gamma$ はPI 4, 5-P<sub>2</sub>をinositol 1, 4, 5-P<sub>3</sub> (IP<sub>3</sub>)とdiacylglycerol (DAG)に分解し、IP<sub>3</sub>は小胞体からCa<sup>2+</sup>を遊離させ、Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇によりcalmodulin (CaM)が活性化される。活性化CaMはCa<sup>2+</sup>の存在化に非活性のcalcineurin (CaN) A/Bに結合しCaN A/Bを活性化する (Ca<sup>2+</sup>-calcineurin経路)。活性化されたCaNはNFATを脱リン化し、NFATは核内へ移行してIL-2遺伝子のプロモーター領域に結合する。

同時に、Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇により膜近傍にリクルートされたPKCは膜に局在するDAGにより活性化される (PKC経路)<sup>6)</sup>。またPI 3KはPI 3, 4-P<sub>2</sub>およびPI 3, 4, 5-P<sub>3</sub>を産生し、これらはホスファチジルセリンの存在下でnovel PKC ( $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ )とatypical PKC ( $\zeta$ )を活性化する (PKC経路)<sup>7)</sup>。PKCはCARMA1/Bcl-10/MALT1, さらにTRAF6を介してIKK (I- $\kappa$ Bキナーゼ)を活

性化し、IKKはNF- $\kappa$ B (p65: c-Rel, p50: NF- $\kappa$ B1)に結合してその核内移行を阻害しているI- $\kappa$ Bをリン酸化することによりNF- $\kappa$ Bから遊離させ、その結果NF- $\kappa$ Bは核内へ移行し、I- $\kappa$ Bは分解される<sup>3)</sup>。

Grb2/Sos複合体はRasを活性化し、活性化Rasはセリン/スレオニンキナーゼであるRaf-1と結合してMEK (MAP kinase-ERK kinase)をリン酸化する。MEKはERK (extracellular signal-regulated kinase, MAP kinase: mitogen activated protein kinase)のチロシンおよびスレオニン残基をリン酸化し、リン酸化されたERKは2量体となって核内に移行してc-Junとc-Fosを結合させ、AP-1を形成する (Ras-ERK経路)<sup>2,8)</sup>。

PTKsの活性化に始まる以上のシグナル伝達経路の活性化を介して、NFAT, AP-1およびNF- $\kappa$ Bの核内移行とDNAへの結合によりIL-2をはじめとしたサイトカインの転写が開始される。これらのTCR/CD3/CD4/8を介したT細胞活性化シグナルにはICAM-1/LFA-1, LFA-3/CD2が必要とされ、これらはsignal 1と総称されている。

#### b. CD28シグナルの伝達

上記のTCR/CD3を介したT細胞活性化シグナルの伝達にはB80 (B7-1)/86 (B7-2)-CD28などの複数の接着分子の相互作用による共刺激シグナルが不可欠である (co-stimulatory pathway)。第二の共刺激シグナル (signal 2)の存在によって初めてT細胞は完全に活性化され、初期応答遺伝子の転写が開始され、引き続きIL-2などのサイトカイン遺伝子の転写が開始される。第二の共刺激シグナルにはB80/86-B28の他にCD40-CD40L (CD154), ICOSL (B7-H2)-ICOSなどがあげられる。これらの共刺激シグナルが存在しない場合は、T細胞は免疫学的無応答 (anergy)に陥るとされている。また上記の活性化共刺激シグナルとは別に、T細胞活性化を抑制するB80/86-

CTLA-4 (CD152), B7-H1 (PD-L1)-PD-1 (programmed death-1), B7-DC (PD-L2)-PD-1 など, さらにT細胞上のリガンドは同定されていないが B7-H3, B7-H4なども確認されている。

共刺激シグナルに関与する代表的な接着分子であるCD28の活性化シグナルの伝達経路およびTCR/CD3との相互作用については, その詳細は不明であるが2つの可能性が推定されている。CD28が樹状細胞上のCD80/86分子に結合すると活性化されたPTKs (Lck, Fynなど)によりCD28の細胞内領域にあるチロシン残基がリン酸化され [pYMXM (Y: チロシン, M: メチオニン, X: 任意のアミノ酸)], pYMXM配列を認識したPI 3Kの調節サブユニットであるp85内のSH2ドメインが結合してPI 3Kが活性化される<sup>3)</sup>。PI 3KはPKC (PKC $\theta$ )を活性化し, 活性化されたPKCは前節で述べた経路によりI- $\kappa$ Bをリン酸化してNF- $\kappa$ Bから遊離させ, NF- $\kappa$ Bは核内へ移行しI- $\kappa$ Bは蛋白分解される。この過程はsirolimus (SRL)によって阻害されるため, mTOR (mammalian target of rapamycin)が関与していると推定されている<sup>3)</sup>。またPKCはJNK (Jun N-terminal kinase)の活性化を介してJunをリン酸化し, JunはFosと会合してAP-1を形成する。さらにPI 3KはAktを活性化し, mTORを介して増殖シグナルを伝達する。

CD28刺激により活性化されたPTKsは, PI 3K経路から独立したLAT/Gads, SLP-76/Vavを介する経路によりPKCを活性化する。また活性化PTKsはLAT/Grb2/Sosを介したRas-ERK経路の活性化によりFosを発現させ, FosはPKC-JNK経路の活性化により発現したJunと会合してAP-1を形成する。

CD28刺激によるシグナル伝達経路は, PI 3K経路とPTKs経路に大別され, 機能的には, 1) NF- $\kappa$ Bの核内移行とDNAへの結合 (PKC-IKK経路), 2) Junのリン酸化からAP-1の形成

(PKC-JNK経路), 3) Fosの発現 (Ras-Erk経路), 4) Aktのリン酸化と増殖シグナルの伝達 (Akt-mTOR経路)などに整理されよう。これらの経路の一部がTCRシグナルの伝達経路と共通であるのか否か, またTCRシグナルとの相互作用についての詳細は不明である。上記の作用を介して, TCR刺激への応答の増強と持続, IL-2転写の促進, SMACの形成などに関与するとされている<sup>9)</sup>。

### c. IL-2Rシグナルの伝達

TCR/CD3および共刺激を介して伝達された活性化シグナルにより活性化されたT細胞はIL-2を産生・分泌するが, 活性化T細胞は膜表面に高親和性IL-2受容体 (IL-2R)を発現し, IL-2と結合したIL-2Rを介したシグナル伝達系路が活性化され, T細胞のクローン性増殖が惹起される (signal 3)。機能的高親和性IL-2Rは, IL-2R $\alpha$ , IL-2R $\beta$ c, IL-2R $\gamma$ c鎖のヘテロ3量体である。IL-2R $\alpha$ の細胞内領域はシグナル伝達には関与せず, IL-2に対するIL-2Rの親和性を高める役割を担っている<sup>10)</sup>。IL-2R $\beta$ c鎖および $\gamma$ c鎖はI型サイトカイン受容体スーパーファミリーに属し,  $\beta$ c鎖はIL-15Rと,  $\gamma$ c鎖はIL-4R, IL-7R, IL-9R, IL-15R, IL-21Rと共有されている。

IL-2R $\beta$ c鎖の細胞内領域は, セリン残基が多く存在するS領域, 酸性アミノ酸を多く含むA領域, プロリン残基が多いH領域から構成され, IL-2による増殖シグナルの伝達に不可欠である<sup>10)</sup>。

S領域にはp72<sup>Syk</sup> (Syk)が会合し, IL-2刺激によるSykの活性化によりc-mycの転写・誘導を経て細胞増殖が促進される<sup>11)</sup>。同時にS領域を介する伝達経路として, bcl-2の転写誘導に関与する経路の存在が推定されている。

またS領域にはJak (Janus kinase) 1も会合しており, Jak1はIL-2刺激によりリン酸化を受け活性化され, 後述するJak3とともにSTAT5を活性化する<sup>10)</sup>。またShc/Grb2/Sosを介してRasを活性化し, RasはRafと結合してMEKをリン

酸化し、引き続きERKがリン酸化を受けて活性化され核内に移行する<sup>12)</sup>。おそらくJak1により活性化されたPI 3KはPIP<sub>2</sub>をリン酸化してPIP<sub>3</sub>を産生するが、PIP<sub>3</sub>はAktのリン酸化を介してmTORを活性化し、mTORのキナーゼ活性によりp70 S6キナーゼ、eIF-4Eを活性化してmRNAの翻訳と蛋白合成を開始させる<sup>12,13)</sup>。さらにcyclin, CDKs (cyclin-dependent kinases) の発現により細胞周期をG1期からS期へと進行させる<sup>14)</sup>。

A領域にはLckが会合し、IL-2刺激によるLckの活性化は、Rasの活性化を介してc-fosおよびc-junの転写を誘導する。しかしIL-2刺激による増殖にLckは必ずしも必須ではないとする指摘もある。

$\beta$ c鎖のH領域にはJakの下流シグナル伝達物質であるSTAT (signal transducer and activator of transcription) 5が会合しており、JakキナーゼによるSTAT5の活性化はIL-2R $\alpha$ 鎖遺伝子の転写を誘導する<sup>10)</sup>。

IL-2R $\gamma$ c鎖はIL-2Rに結合したIL-2の細胞内への取り込みに必須であり、その細胞内領域はIL-2依存性細胞増殖に必須である<sup>15,16)</sup>。 $\gamma$ c鎖のC末端の48アミノ酸からなる領域にJak3が会合し、その活性化はJak1, STAT5の活性化を誘導する<sup>15)</sup>。STAT5はリン酸化された後に $\beta$ c鎖H領域から解離し、ホモ2量体を形成して核内へと移行して転写活性を発揮する<sup>16)</sup>。STAT転写因子群以外のJakの下流シグナル伝達物質として近年同定されたSTAM(signal transducing adaptor molecule)はITAM領域を介してJak3と会合し、IL-2刺激下でJak3によるリン酸化を受けて活性化され、c-mycの転写誘導、IL-2依存性細胞増殖を促進する<sup>17)</sup>。さらに非受容体型チロシンキナーゼとして最近同定されたPyk2はIL-2依存性にJak3によって活性化され、増殖シグナルを伝達する<sup>18)</sup>。

IL-2Rは細胞内領域にチロシンキナーゼドメインが存在しないため、活性化シグナルを伝達するには、キナーゼ活性をリクルートする必要がある<sup>5)</sup>。IL-2との結合によりL-2R $\beta$ cおよび $\gamma$ c鎖のチロシン残基がリン酸化され、これに引き続きSyk, LckなどのSrcファミリーチロシンキナーゼ、Jak1, Jak3などのJakファミリーチロシンキナーゼ、FAK (focal adhesion kinase) ファミリーチロシンキナーゼであるPykなどが活性化され、増殖シグナルが伝達される。これらの種々のPTKsを起点とするシグナル伝達経路は、1) PTKs (Syk, Lck)-初期応答遺伝子 (c-myc, c-fos, c-jun) 発現に至る経路と、2) Jakキナーゼを起点とするJak3-STAT経路、Jak3-STAM経路、Jak3-Pyk2経路、3) PI 3K-Akt-mTOR経路などの経路に整理される。mTORの活性化に至る機序の詳細は不明であったが、近年PI 3K-Akt経路が関与していることが明らかにされた<sup>19)</sup>。

## B. 分子標的免疫抑制薬

分子標的免疫抑制薬とは、前節で述べた免疫応答に関与する特定の分子構造を特異的に標的として開発された免疫抑制薬である。現在開発されている、あるいは開発中の分子標的免疫抑制薬は、1) リンパ球の活性化に関与する受容体、ならびに膜表面に存在する特定の分子を標的としたモノクローナル抗体あるいは合成IgG蛋白 (fusion protein)、2) T細胞活性化シグナルの伝達に関与する特定の分子の阻害薬、さらに、3) 細胞周期を調節する特定の分子を標的とする薬剤などに大別される。これらについて以下に概説する。

## C. 抗体治療薬: リンパ球表面抗原を標的としたモノクローナル抗体 (表1)

リンパ球表面マーカーに対するモノクローナル

抗体 (mAb), あるいは表面マーカーを標的とした合成IgG蛋白 (fusion protein) などがあげられ, 抗CD3mAb [muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3)], 抗CD25mAb (basiliximab) などのT細胞表面マーカーに対する単抗体はわが国においても現在広く臨床で用いられている. 上記の他, 海外では抗CD2mAb [LO-CD2a (BTI322), MEDI-507, LFA-3-Ig], 抗CD3mAb [Campath 3 (ChAglyCD3)], HuM291, hOKT3 $\gamma$ 1, 抗CD3 immunotoxin, 抗CD4mAb (OKT4A, cM-T412, clenoliximab, Humax-CD4, TRX1), 抗CD6mAb, 抗CD8mAb, 抗CD11a (LFA-1) mAb [efalizumab (Xanelim, MHM24)], 抗CD25mAb [daclizumab (Zenapax)], 抗CD28mAb (TGN-1412), 抗CD40mAb (4D11), 抗CD45RbmAb, 抗CD52mAb [alemtuzumab (Campath-1H)], 抗CD54 (ICAM-1) mAb, 抗CD80mAb, 抗CD86mAb, 抗CD154 (CD40L) mAb, CTLA-4Ig [abatacept, belatacept (LEA29Y), BMS-224818], 抗VLA-4mAb [natalizumab (Antegren)], 抗ICOSmAb, ICOSIg, 抗CD20抗体 [rituximab (Rituxan)] などのT細胞, B細胞, NK細胞, 胸腺細胞, 樹状細胞 (DC), 単球, 白血球, 内皮細胞などの表面マーカーに対する特異的阻害薬が開発されている.

一般にmAbは目的とする抗原でマウスなど異種動物を感作し, その脾細胞と骨髓腫細胞の細胞融合から得られるハイブリドーマ細胞から, 目的とする抗体を産生するクローンを選択し, in vivoないし in vitroで増殖させ, 得られた抗体を純化することによって作成される. 上記の方法により作成されたmAbは基本的に異種抗体であることから, ヒトに投与された場合速やかにmAbに対する異種抗体 [抗マウスヒト抗体 (HAMA), 抗ラットヒト抗体 (HARA) など] が産生されるため半減期が短く, その効果は限定されざるを得

ない. この問題を解決すべく当初F(ab')<sub>2</sub>の投与が検討されたが, 効果が減弱するため, mAbの可変部にヒトIgGの定常部 (Fc) を結合させたキメラ抗体 (-ximab), さらには遺伝子組換え技術を用いてmAbの超可変部以外をヒト型とするヒト化抗体 (-zumab) が作成された (図3). キメラ抗体, ヒト化抗体は, そのgene constructをChinese hamster ovary (CHO) 細胞株にtransfectすることにより量産することができる. ヒト化mAbでは, 抗原と特異的に結合する相補性決定領域 [complementarity determining regions (CDRs)] 以外はヒトIgGと同一であり, 異種抗体の産生の問題はほぼ解決され, 半減期も延長して安定した治療効果が得られるようになった. さらに異種mAb静脈内投与時に認められる悪寒, 発熱, 下痢などのいわゆるcytokine release syndrome (CRS) は, mAbのヒト化により軽減される. 今後, ヒトIgG遺伝子に置換されたマウスに免役して得られた完全ヒト抗体の開発が期待される.

また細胞膜表面抗原のうちあるものは特異抗体が結合すると抗原抗体複合体が細胞内に取り込まれる (internalization) ことを利用して, 毒素, 放射性物質, 抗癌剤などを抗体に結合させ, 標的細胞上の抗原と結合して抗体とともに細胞内に取り込まれた毒素, 放射性物質, 抗癌剤によって細胞傷害効果が得られる. 現在, immunotoxin, radioimmunoconjugate, chemoimmunoconjugateなどが開発されているが, 臓器移植の分野では抗CD3 immunotoxinが, rituximab不応性のB細胞リンパ腫に対する治療に<sup>90</sup>Y標識抗CD20mAbが, 急性骨髄性白血病に対する治療にcalicheamocinにヒト化抗CD33mAbを結合させたMylotargなどが開発されている.

落丁のため別紙をご参照ください

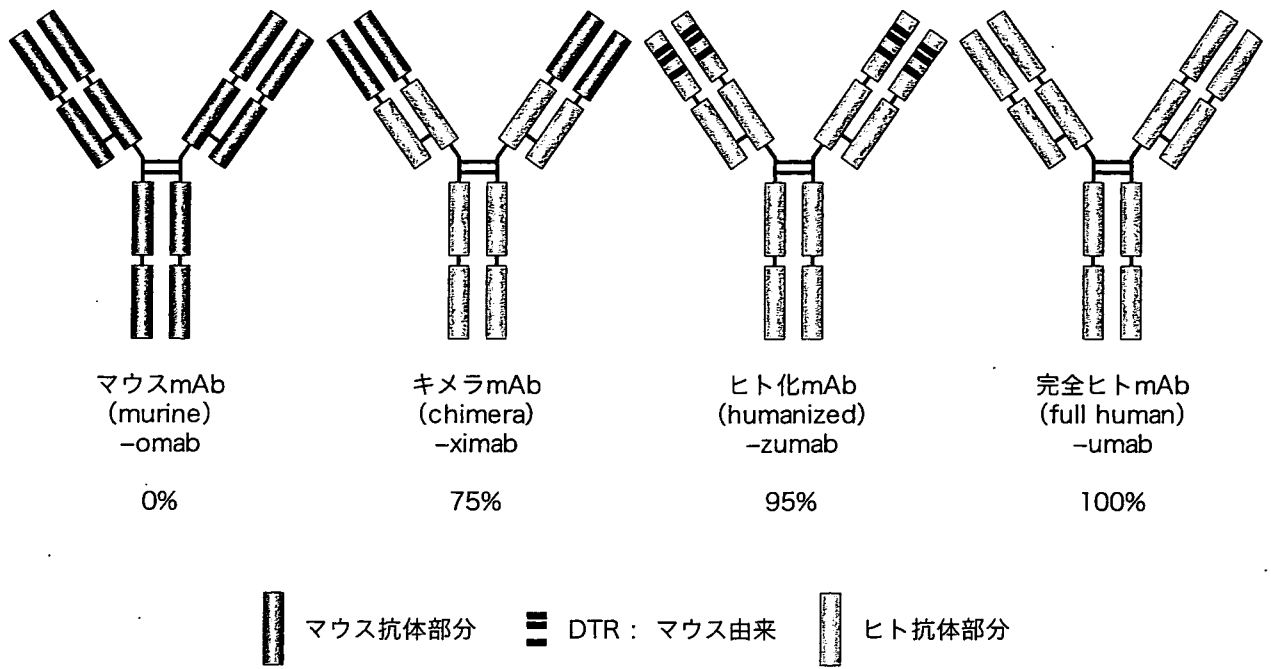


図3

### 1. 抗CD52mAb (alemtuzumab (Campath-1H))

CD52は21~28kDaの糖蛋白からなるリンパ球表面マーカーであり、主としてT, B細胞, さらには単球, マクロファージに発現している。かつてCD52を標的とするラットIgMmAbであるCampath-1M, ラットIgG2b抗体であるCampath-1Gが開発され, 前者は骨髄移植におけるGVHDおよび拒絶反応の防止に, 後者はリンパ系悪性腫瘍の治療に試みられた。しかし治療効果は認められるものの, 抗ラット抗体(HARA)の出現が認められたため, ヒトIgG1の骨格にCampath-1Gの超可変領域を導入したヒト化Campath-1Gが作成された。さらにその重鎖可変ドメインのアミノ酸置換によりアフィニティーを改善したものがalemtuzumab (Campath-1H)であり, リンパ系悪性腫瘍, 自己免疫疾患, 臓器移植後の免疫抑制に用いられている<sup>20)</sup>。

Campath-1HはT, B細胞膜表面のCD52に結合し, complement-dependent cytotoxicity

(CDC) および, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) によって細胞溶解を惹起するほか, 標的細胞へのシグナル刺激により標的細胞を破壊する機序も想定されている。この機序によりT細胞が刺激されると, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ などのサイトカインが放出される。

Campath-1Hの投与により末梢血中のT, B細胞は急速かつ持続的に減少する。Calne<sup>21)</sup>は2回のCampath-1H投与(20mgの0 POD, 1 POD投与)に続く低用量のcyclosporine (CsA) 単独投与(Co 75~125ng/ml)により, 長期の移植腎生着が得られたと報告している。31例中6例に拒絶反応が認められ, うち3例は拒絶反応寛解後にtriple regimenに変更されたが, 27例は低用量CsAの単独療法で維持可能であった。Campath-1H投与後, 全例において末梢血リンパ球の著明な減少が認められ, 2~6カ月間持続したが, 1例が虚血性心疾患で死亡した以外は, 感染症など重篤な合併症は認められなかったと報告している。

Knechtleら<sup>22)</sup>は、腎移植において20mgのCampath-1Hの2回(0POD, 1POD)に続くSRLの単独療法を試み、24例中4例に生検で拒絶反応が認められ、うち1例が移植腎廃絶に陥ったが、20例でSRLの単独療法による維持が可能で、移植腎機能はきわめて良好であったと報告している。また同様にCampath-1H投与に続く低用量のtacrolimus (Tac)の単独投与により、長期の移植肝生着が得られている。筆者らはCampath-1Hにステロイド、低用量のCsAおよび低用量のeverolimus (RAD)を組み合わせて腎移植後の免疫抑制を行う機会を得た<sup>23)</sup>。

## 2. CD3mAb (orthoclone OKT3 (OKT3), Campath 3 (ChAglyCD3), HuM291, huOKT3 $\gamma$ 1, 抗CD3 immunotoxin)

CD3はTCRと抗原認識複合体を形成し、TCRからの抗原刺激を細胞内シグナル伝達に変換することによりT細胞の活性化に不可欠の機能を担っている。OKT3は抗ヒトCD3マウスIgG2a抗体であり、成熟T細胞のCD3分子の $\epsilon$ 鎖に結合する。OKT3投与により末梢血中のCD3陽性細胞数は急速に減少するが、3~5日後にはCD3を欠いたT細胞が末梢血中に出現する。末梢血中のT細胞の急速な減少は補体依存性のT細胞溶解により、その後のCD3陰性T細胞の出現は抗原変容によるものと考えられている<sup>24)</sup>。OKT3は移植臓器に浸潤したT細胞にも効果があり、投与後浸潤T細胞も減少する。これらの効果によりOKT3はステロイド抵抗性の拒絶反応の治療に用いられ、絶大な効果をあげてきた。

しかしOKT3投与後、高熱、悪寒、下痢、呼吸困難などの副作用が認められ、TNF $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-2などのサイトカイン放出によるものとされ、また補体活性化も認められている。サイトカイン放出は初回投与時に多く認められ、2~3回目の

投与時にはほとんど認められない<sup>25)</sup>。またOKT3はマウスIgG2a抗体であり、産生された抗マウス抗体(HAMA)により中和されるため血中半減期が短い。

上記の問題を克服すべく、FcR非結合型のヒト化抗CD3mAb(Campath 3(ChAglyCD3), HuM291, huOKT3 $\gamma$ 1)が作成され、臓器移植における免疫抑制、自己免疫疾患の治療に試みられた。Campath 3は、ヒト化抗CD3抗体のIgG重鎖の297位のアミノ酸を置換(Asn $\rightarrow$ Ala)して糖化を阻害することにより、FcRへの結合能および補体結合能を喪失させたaglycosylated humanized anti-CD3 mAb(ChAglyCD3)である。Friendら<sup>26)</sup>は9例の腎移植後拒絶反応を併発した患者にCampath 3(8mg 8日間、あるいは初回24mg以後8mg 5~6日間)を投与し、7例で拒絶反応が寛解したと報告している。投与後1~4時間後に5例にTNF- $\alpha$ の上昇(100pg/ml以上、うち3例は1000pg/ml以上)が、3例にIFN- $\gamma$ の上昇(1IU/ml以上)が認められたが、サイトカイン放出に伴うCRSは軽微であったとしている。末梢血中CD3陽性細胞は投与後速やかに消失し16日間にわたり認められなかったが、CD4およびCD8発現率の変化、ならびに末梢血中リンパ球数の変化は認められなかったことから、CD3の消失はT細胞の枯渇によるものではなくCampath 3によるCD3の被覆か抗原変容によるものと推定している。

HuM291はヒト化抗CD3mAbの定常部を遺伝子組換え技術により変異させ、Fc $\gamma$ Rへの結合能を低減させたものである。Normanら<sup>27)</sup>はHuM291を15例の生体腎移植患者に移植前に0.15 $\mu$ g/kg~0.015mg/kg投与し、0.0015mg/kg以上の投与量で投与後2時間以内にT細胞は著明に減少し、その効果は用量依存性であったと報告している。また0.0015mg/kg以上の投与量において、投与後1~6時間で血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ お



よびIL-6は最高値に達し、24時間以内に検出されなくなったが、CRSは軽度から中等度であったとしている。チンパンジーに対する1mg/l回投与後、および10mg隔日投与での3回投与後のHuM291の半減期はそれぞれ16時間、82時間とされていることから、ヒト化することによりmAbの半減期が延長されたと考えられる。サイトカイン遊離およびそれに伴うCRSについては、ヒト化およびFcR非結合型とすることによっても、完全に抑制することはできなかったが、CRSの頻度とその程度の軽減は可能であったとされている。

その他にもFcR非結合型ヒト化抗CD3mAbとしてhuOKT3 $\gamma$ 1が開発され、腎移植後の拒絶反応の治療、低用量のTacおよびSRLとの併用で膝島移植などに試みられている。

### 3. CTLA-4Ig (belatacept (LEA29Y), BMS-224818)

TCR/CD3からのシグナル (signal 1) によりT細胞を活性化させるためにはCD28などの共刺激 (signal 2) が必須であり、共刺激が存在しない場合T細胞はanergyに陥る<sup>28)</sup>。belatacept (CTLA-4Ig, LEA29Y) は樹状細胞膜上のCD80/86に結合し、T細胞上のCD28との結合を阻害して、CD80/86とCD28による共刺激を抑制する。CTLA-4 (CD152) のCD80/86に対する親和性はCD28と比較して20~50倍高く、効果的にCD28の結合とシグナル伝達を阻害する。CTLA-4Igには、CTLA-4の細胞外ドメインをヒトIgG1の定常部 (Fc) を結合したabataceptがあるが、belataceptはabataceptの2個のアミノ酸置換を行い、CD80/86に対する親和性を高めたものであり、より強力な免疫抑制作用を発揮する<sup>29)</sup>。

Vincentiら<sup>30)</sup>は腎移植におけるbelataceptとCsAの多施設比較試験を行い、拒絶反応の発生

率、移植腎機能においてbelataceptが優れていたと報告している。belatacept高用量群 (10mg/kg: 1, 5, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 113, 141, 169POD, 移植後7~12カ月5mg/kg: 4~8週毎)、低用量群 (10mg/kg: 1, 5, 29, 57, 85POD, 移植後4~12カ月5mg/kg: 4~8週毎)、およびCsA群 (4~10mg/kgで開始して最初の1カ月は150~400ng/ml, 2~12カ月は150~300ng/mlに調節) に分け、すべての群でbasiliximab, mycophenolate mofetil (MMF) およびステロイドが併用されている。移植後6カ月までの拒絶反応の発生率は、belatacept高用量群で7%、低用量群で6%、CsA群で8%と3群間に差は認められなかったが、移植後12カ月におけるGFRはそれぞれ66.3, 62.1, 53.5ml/分とbelatacept投与群で良好であり、またchronic allograft nephropathy (CAN) の発生率はそれぞれ29, 20, 44%とCsA群で高かったと報告している。

belataceptはマウスの同種移植、異種移植において免疫寛容を誘導でき、乾癬に対しても有効であるが、40mg/kgという比較的大量の投与が必要であったことから、これを克服するものとして最近でbelataceptに点変異を起こさせ親和性を10倍ほど高めたBMS-224818が開発された<sup>31)</sup>。BMS-224818はサル膝島移植においてTacおよびSRLの併用で生着延長効果が認められ、またcalcineurin inhibitor (CNI)-freeレジメンを用いた臨床腎移植においても良好な成績が得られている<sup>32)</sup>。

### 4. 抗CD80mAb (1F1, hu1F1), 抗CD86mAb (3D1, hu3D1)

CD80/86を介した共刺激を阻害するものとしてはCTLA-4Ig以外に抗CD80mAb, 抗CD86mAbがあげられ、ヒト化抗ヒトCD80mAb (hu1F1) ヒト化抗ヒトCD86mAb (hu3D1) が開発され

ている。

Kirkら<sup>33)</sup>はサル腎移植においてhu1F1, hu3D1, hu1D1/hu3D1の単独療法を行い, hu1F1およびhu3D1単独療法では生着延長効果は認められなかったが, hu1D1/hu3D1単独療法(それぞれ20mg/kg血流再開直前投与, 引き続き5mg/kgを1週毎に8週まで投与)では著明な生着延長効果が認められたと報告している。臨床腎移植においてhu1D1/hu3D1, CsA, MMF, ステロイド併用療法で良好な成績が得られている。

筆者ら<sup>34)</sup>はサル腎移植において, 移植時にレシピエントリンパ球と照射したドナーリンパ球を抗CD80/86mAb添加して2週間混合培養を行い, 洗浄後レシピエントの培養リンパ球をCPAの前処置のもとでadoptive transferを行い, ドナー特異的な免疫寛容を導入し得た。このリンパ球分画には多数のCTLA-4が発現していたが, マウスで同様のプロトコールで培養を行うとFoxp3の発現が認められたことから, 調節性T細胞が誘導されたものと推定している。ヒトリンパ球を用いた混合培養においても抗CD80/86mAb添加により, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CTLA-4<sup>+</sup>FoxP<sup>+</sup>リンパ球が誘導されること, このリンパ球の添加によりMLRが抑制されうることを筆者らは確認している(未発表データ)。

### 5. 抗CD20mAb (rituximab (Rituxan))

rituximabはキメラ型抗CD20mAbであり, ヒトIgG1κの定常部とIgG1型マウス抗CD20抗体重鎖および軽鎖の可変部を融合してキメラ化した抗体である。CD20陽性B細胞に結合すると, CDCおよびADCCにより, 標的B細胞はアポトーシスに陥る。定常部のヒト化により, ヒト補体によるCDCおよびADCC活性は著明に増強された<sup>35)</sup>。

本来はB細胞リンパ腫の治療薬であるが, 筆者らは血液型不適合腎移植において血漿交換を行っ

ても抗ドナー血液型抗体が低下しない症例にrituximabを投与し, 脾摘を行ったのちに血漿交換を行い, 抗体価を低下させた上で腎移植を行い, 全例において良好な結果を得ている<sup>36)</sup>。これらの結果から抗ドナー血液型高力価症例に対する前処置として, あるいはrituximab投与により脾摘を省略するプロトコール, さらには抗ドナーリンパ球抗体陽性例あるいは抗HLA抗体高力価例に対する前処置として, 今後臓器移植の分野においても応用されるものと考えられる。

その投与量, 投与回数, 抗体価の許容限界と適応などについて今後検討が必要と考えられる。また副作用として好中球減少症が投与例の45.9%に認められ, 投与後1~266日(中央値: 32.5日)に発生する。その機序として抗好中球抗体の産生, T-cell large granular lymphocytes (TLGL, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD57<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>)による破壊, 骨髄系前駆細胞に対するT-cell-specific cellular response (autologous GVHD), 骨髄内におけるTNFα放出などが想定されているが, 詳細は不明である。筆者らも高度の好中球減少症を経験したが, 末梢血中のCD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD57<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>出現率が非常に高くTLGLの関与が強く疑われた。いずれにせよrituximab投与に際しては好中球減少症の発生に十分な注意が必要である。

### 6. 抗CD25mAb(basiliximab (Simulect), daclizumab (Zenapax))

basiliximabはIL-2Rα鎖に対するキメラ抗体で, マウスIgG2aの重鎖および軽鎖の可変部にヒトIgG1の定常部を結合してキメラ化した抗体である。抗CD25mAbによりIL-2Rは飽和され, IL-2刺激依存性T細胞増殖シグナルの伝達は阻害される。daclizumabはIL-2Rα鎖に対するヒト化mAbであり, CD25に対する親和性は10倍低いとされている。basiliximabは移植当日と4日

目に20mgを静脈内投与するのが一般的であり、daclizumabは移植前に1mg/kgを、その後2週間に1回、総計5回投与する。両者とも投与後速やかに末梢血中リンパ球上に発現しているIL-2Rの90%以上は飽和される。basiliximabでは血中濃度0.2  $\mu\text{g/ml}$  (ELISA) 以上で、あるいは0.7~1.0  $\mu\text{g/ml}$  (RIA) 以上でIL-2Rの飽和は維持される。basiliximabでは投与後7~8週間、daclizumabでは12週間、IL-2Rの飽和が維持され、末梢血におけるCD25の発現率は著明に抑制される<sup>37)</sup>。

抗CD25mAbにより、拒絶反応の発生率の減少、生着率の改善が得られ、併用薬剤特にCNI、ステロイドの減量が可能になった<sup>38)</sup>。筆者ら<sup>39)</sup>は腎移植において、basiliximab, CsA, MMF, ステロイドで導入し、移植後2週間でステロイドを中止する早期ステロイド離脱プロトコールにより、拒絶反応、特にステロイド抵抗性拒絶反応の発生率の減少、サイトメガロウイルス感染症の発生率の減少、移植後耐糖能異常の頻度の減少、入院期間の短縮などを達成している。

最近では慢性拒絶反応、CANに対して長期反復投与が試みられているが、basiliximabはキメラ抗体であるため抗マウス抗体の産生によるアナフィラキシーなどに注意する必要がある。

## 7. その他の抗体治療薬

上記の抗体治療薬の他にも、抗CD2mAb, 抗CD4mAb, 抗CD6mAb, 抗CD8mAb, 抗CD11a (LFA-1) mAb, 抗CD40mAb, 抗CD45RbmAb, 抗CD54 (ICAM-1) mAb, 抗CD154 (CD40L) mAb, 抗VLA-4mAb, 抗ICOSmAb, ICOSIgなどがあげられるが、表1にその概略を示す。

## D. シグナル伝達阻害薬

活性化シグナル伝達阻害薬としてはCsA, Tac

などのCalN inhibitor (CNI) があげられる。CNIは、CalNに特異的に結合してそのphosphatase活性を抑制することにより、NFATの脱リン化を阻害してその核内移行を阻止し、抗原刺激によるT細胞内の活性化シグナル伝達を阻害する。これらの薬剤は、特定の分子を標的とした薬剤ではあるが、薬剤の免疫抑制作用が発見された後に、その作用機序が分子レベルで解明されたものであり、このような場合は分子標的治療薬とはよばないのが一般的である。ここでは活性化シグナル伝達に重要な役割を担っているPKCを標的とした阻害薬NVP-AEB071 (AEB) およびJak3を標的とした阻害薬CP-690550を紹介する。

### 1. NVP-AEB071 (AEB): PKC阻害薬

NVP-AEB071 (AEB) は、conventional PKCのうち $\alpha$ ,  $\beta$ 型、およびnovel PKCのうち $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ 型を選択的に阻害するが、atypical PKCのうち $\zeta$ 型は阻害しない<sup>40)</sup>。TCR/CD3を介した刺激はPTKsを活性化し、PTKsの活性化は $\text{Ca}^{2+}$ -calcineurin経路, Ras-Erk経路, PKC経路を介して伝達され、NFAT, AP-1 (Jun/Fos), NF- $\kappa$ Bなどの転写因子を活性化する (図2)。AEBは上記のうちPKC経路を選択的に阻害する。I- $\kappa$ Bのリン酸化を阻害してNF- $\kappa$ Bからの遊離とその分解とを抑制し、NF- $\kappa$ Bの核内移行を抑制すると同時に、JNKによるJunのリン酸化を阻害し、Fosとの結合によるAP-1複合体の形成を抑制する。さらにCD28を介した活性化シグナル伝達についても、PKC $\delta$ 阻害 (PKC $\zeta$ は阻害しない) によりNF- $\kappa$ B/I- $\kappa$ B複合体からのNF- $\kappa$ Bの遊離と核内移行を阻害して抑制すると考えられる。

Evenouら<sup>40)</sup>は、AEBはPKC $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ を強力に抑制するが、この抑制はきわめて選択的でセリン/スレオニンキナーゼ, チロシンキナーゼは抑制しなかったと報告している。また

表1

target antigen	antibodies	property
CD2	BTI-322 (LO-CD2a) MEDI-507 LFA3TIP (alefasept, Amevive)	at IgG2b mAb humanized IgG1 mAb LFA-3-human IgG1 fusion protein
CD3	muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3) Campath 3 (ChAglyCD3) HuM291 huOKT3 $\gamma$ 1 anti-CD3 $\epsilon$ single-chain immunotoxin	mouse IgG2a mAb FcR-nonbinding humanized mAb FcR-nonbinding humanized mAb FcR-nonbinding humanized mAb truncated diphtheria toxin fusion protein
CD4	clenoliximab keliximab zanolimumab (HuMax-CD4) TRX1 OKT4a OKTcdr4 priliximab (cMT-412)	macaque/human chimeric IgG4 mAb macaque/human chimeric IgG1 mAb fully humanized mAb humanized IgG1 mAb murine IgG2a mAb humanized CDR-grafted mAb chimeric mAb
CD7	SDZCHH380	humanized anti-CD7 IgG1 mAb
CD11a (LFA-1)	efalizumab (Xanelim, MHM24)	humanized anti-CD11a mAb
CD20	rituximab (Rituxan)	mouse/human chimeric IgG1 mAb
CD25 (IL-2R $\alpha$ )	basiliximab (Simulect) daclizumab (Zenapax)	murine/human IgG1 mAb humanized mAb
CD28	JJ319	humanized anti-CD28 mAb
CD40	4D11	human anti-CD40 mAb
CD45	B220 MB23G2	anti-CD45RA mAb anti-CD45RB mAb
CD52	alemtuzumab (Campath-1H)	humanized anti-CD52 mAb (CDR: rat)
CD54 (ICAM-1)	enlimomab (BIRR1) odulimomab (anti-LFA-1 mAb)	murine mAb murine IgG mAb
CD80/CD86	CTLA-4Ig (belatacept (LEA29Y)) BMS-224818 hu1F1/hu3D1 IDEC-114	mutant CTLA-4 fusion immunoglobulin Fc single point-mutant CTLA-4Ig humanized anti-CD80/86 mAb humanized anti-CD80 mAb
CD154 (CD40L)	hu5C8/Antoval IDEC 131	humanized anti-CD154 mAb humanized anti-CD154 mAb
TCR	T10B9.1A-31	murine IgM mAb
ICOS	anti-ICOS mAb ICOS Ig	murine anti-ICOS mAb, ICOS Ig fusion protein
ICOS-L (CD275)	anti-ICOSL mAb	murine anti-human B7RP-1 mAb
VLA-4	natalizumab	humanized anti-VLA-4 mAb