

. 総括研究報告

研究要旨

SLEは皮膚、中枢神経、腎臓など多臓器障害を伴う代表的自己免疫疾患で、自己抗体産生等の免疫異常がその原因である。根本的治療はなく、発症ピークが20 - 30歳代であることから長期のステロイド剤による治療を余儀なくされ、感染症・動脈硬化・骨粗鬆症等合併症により長期的予後は不良である。さらに重症例、難治症例においてはステロイドのみでの病勢制御が困難である。長期ステロイド投与の回避や制御不良例に対してはステロイド以外の治療薬が必要であるが、現時点ではその選択肢が乏しく新規治療法の開発が強く望まれている。ボルテゾミブは形質細胞腫瘍である多発性骨髄腫に対し高い有効性を有する分子標的薬であり、形質細胞腫瘍だけでなく形質細胞が産生する抗体が発症原因である自己免疫疾患に対しても高い効果を発揮することが期待される。

これらの背景から、平成24年度より申請者らは厚生労働省科学研究補助金のもとに難治性SLEに対するボルテゾミブ療法の確立を目指した医師主導治験を進めている。平成24年度は治験プロトコルの作成、およびPMDAとのdiscussionを行い、実薬7例、プラセボ7例を目標症例数とするRCTとしてプロトコルを確定し、平成25年度から治験を開始した。平成26年は最終年度として目標症例数の治験を終了し、治験総括書を作成した。この治験総括書については、3年の総合研究報告書にまとめる予定である。

研究分担者

石井智徳	東北大学大学院医学系研究科	血液・免疫病学分野	准教授
田中良哉	産業医科大学医学部	第一内科学講座	教授
川上純	長崎大学病院	第一内科	教授
齋藤和義	産業医科大学医学部	第一内科学講座	准教授
石澤賢一	山形大学大学院医学系研究科	血液・細胞治療内科学講座	教授
山口拓洋	東北大学大学院医学系研究科	医学統計学分野	教授
井上彰	東北大学病院 臨床研究推進センター		特任准教授

A. 研究目的

膠原病の代表的疾患である全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus : SLE) は、男女比 1:9、発症年齢のピークが 20-40 歳と 若年女性が主体となる疾患である。頬部紅斑、円盤状皮疹、日光過敏などの皮膚病変、口腔潰瘍などの粘膜病変、関節炎などの症状に加え、溶血性貧血、免疫性血小板減少症などの血液異常、更に漿膜炎、腎臓、中枢神経、肺、心、腸、膀胱、末梢神経、膵臓、眼など多彩な内臓病変が出現する。根本的治療がなく、炎症の病態に合わせてステロイドホルモンを中心とした免疫抑制療法がおこなわれるが、治癒することは期待できず、一生涯継続的な診察、治療を必要とされる難治性疾患である。特に、重症例、難治性症例においては標準的治療薬であるステロイド剤のみでは病勢をコントロールすることが難しく、またステロイド剤が有効であっても一定量以下に減量する事が出来ず治療に難渋することが珍しくない。SLE は形質細胞により産生された自己抗体が免疫複合体を形成し、組織に沈着して補体系の活性化などを介して炎症性変化並びに組織障害が惹起され発症すると考えられている。したがって SLE の特異的治療として、自己抗体産生を長期に渡り、かつ、効果的に阻止するために B 細胞から形質細胞に至る抗体産生細胞の制御が有用であることが期待され、抗 CD20 抗体 (リツキシマブ) や B 細胞共刺激因子である BLyS に対する抗体等の生物学的製剤が開発されてきた。しかしながら、これら新規治療薬による臨床試験の結果も満足できる結果ではなく、更に抗体産生に特化した細胞を標的とした新たな治療が必要であると考えられる。

ボルテゾミブは可逆的かつ特異的プロテアソーム阻害薬で多発性骨髄腫に対する有効性が確立している。ボルテゾミブのプロテアソーム阻害によるユビキチン化タンパクの蓄積は小胞体ストレスを誘導しアポトーシスを惹起するが、タンパク質合成の盛んな形質細胞は小胞体ストレスを起こしやすくプロテアソーム阻害剤の感受性が高い。このようなボルテゾミブの作用機序から、SLEをはじめとする抗体関連良性疾病に対してもボルテゾミブが有効であることが予想される。実際ループス腎炎(LN)モデルマウスにおいて、ボルテゾミブの投与によりdsDNA抗体産生形質細胞が消失し、LNの発症が抑制され生存期間が延長することが報告されている。また、SLE合併多発性骨髄腫症例にボルテゾミブを投与した際に速やかに自己抗体が消失したとの報告がある。

そこで今回、平成24年度より厚生労働省科学研究費のもと、難治性SLEに対するボルテゾミブ療法の確立を目指した医師主導治験を進めてきた。本研究の独創性は形質細胞腫瘍に対し有効であるボルテゾミブを、形質細胞による病的自己抗体産生を原因として発症するSLEに適用し、臨床応用を目指す点にある。腫瘍性疾患に対する薬剤を良性疾病であるSLEに対し用いる倫理的妥当性・安全性については、すでにアルキル化剤であるシクロフォスファミドがループス腎炎に対し承認されていること、本薬剤が従来抗がん剤とは異なる分子標的薬であること、多発性骨髄腫に対する治療プロトコールより少ない投与コース数を設定することにより担保されたと考えている。

B. 研究方法

本研究は「難治性SLEに対するボルテゾミブ療法」の医師主導治験を行うことが目的である。この医師主導治験の実施体制を右に示す。本治験は東北大学臨床研究推進センターを中心に行い、実施施設は東北大学、産業医科大学、長崎大学の3施設である。

また、SLEモデルマウスを用いてボルテゾミブの薬効を追試する研究を実施する。

(倫理面への配慮)

本研究は医師主導治験であり、厚生労働省の「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（GCP）」に準拠して行う。

具体的には以下のように行う。

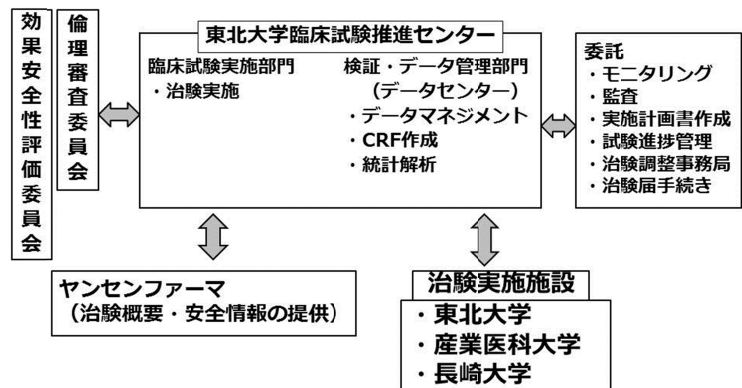
- 1) 東北大学および治験参加施設の治験審査委員会（IRB）の承認を得る。
- 2) 被験者については連結可能匿名化を行う。
- 3) 被験者に対しては説明文書を用いて試験の意義、目的、方法等の内容を説明し、文書による同意を得てインフォームドコンセントを行う。

なお、以下の点を明記し人権擁護に配慮する。

- ・参加は自由意志に基づくこと、
- ・同意の撤回は可能であること、
- ・同意を撤回しても何ら不利益を受けないこと、
- ・試料等の取り扱いについて、
- ・結果の公表について

また、実験動物については、動物実験等の実施に関する基本指針にのっとり実験を進める。

難治性SLEに対するボルテゾミブの有効性・安全性探索試験実施体制



C. 結果

平成26年度

1) 治験実施

ボルテゾミブのSLEに対する薬事承認までのロードマップは右の通りである。この中で本研究は最初のPOC試験の実施に該当する。

試験デザイン：

多施設共同プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験

選択基準：

難治性SLEとしての症例選択は以下の条件を満たす患者とする。

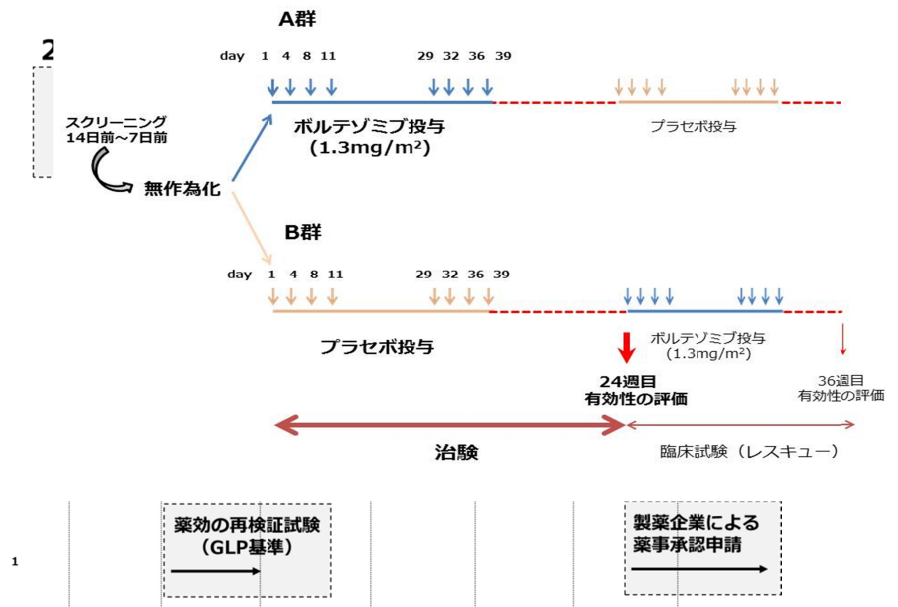
- 1)20 歳以上65 歳未満の患者（同意取得時）
- 2)アメリカリウマチ協会（ACR）クライテリア11項目中4項目を満たすもの
- 3)一日あたりプレドニゾロン換算10mg以上のステロイドホルモン製剤を6カ月以上継続して使用している。
- 4)一剤以上の免疫抑制剤*の使用歴がある、あるいは現在も一剤以上の免疫抑制剤を併用している。
- 5)SLENA SLEDAIスコアにて6点以上31点以下である
- 6)投与開始前28日以内の検査で免疫学的活動性を有する。
（抗dsDNA IgG抗体 13IU/ml以上）

投与スケジュール：

多発性骨髄腫で承認されている投与量(1.3mg/m²)、投与方法(d1, 4, 8, 11の4回投与、2週間の休薬で1コース)を基本とする。

良性疾患であるSLEを対象とすること、多発性骨髄腫に対する治療においてボルテゾミブの治療効果が1カ月で発現することから、治療サイクルは2コースと限定し治療効果を評価する。

主要評価項目：



投与開始より24週後におけるdsDNA抗体価の低下。

副次評価項目：

投与開始より12週後、24週後における以下の項目とする。

1. 抗dsDNA抗体の低下、補体の上昇
2. 治療反応率 SLEDAI response index (SRI) *
3. BILAG AまたはBの臓器障害スコアの改善度
4. SLICC/ACR damage indexによる臓器障害度の変化
5. プレドニン投与量の変化率

*SRIに関しては以下の全てを満たす症例を治療反応があった症例として定義した。

1. SLENA SLEDAI 4点以上の改善
2. 医師によるPGAで悪化なし
3. BILAG A 1項目あるいはBILAG B2項目の出現がない

以上の概要に従い、平成25年に引き続き、治験を実施した。本治験参加に文書同意した19例の被験者のうち、組み入れ基準に該当しない等の理由により前観察期に脱落した5例を除く14例をボルテゾミブ群に8例、プラセボ群に6例無作為に割り付けた。割り付けられた全例を有効性解析対象集団および安全性解析対象集団に採用した。ボルテゾミブの投与量は、 1.3 mg/m^2 (体表面積) を投与1、4、8、11日目(1サイクル目)に皮下注射にて投与し、休薬後、投与29、32、36、39日目(2サイクル目)に同様に投与した。その後、後観察期を設けて、投与169日目(投与24週)まで観察した。

その結果、有効性は、主要評価項目および副次評価項目のいずれにおいても両群間に有意差は認められず、ボルテゾミブ群の効果は確認されなかった。

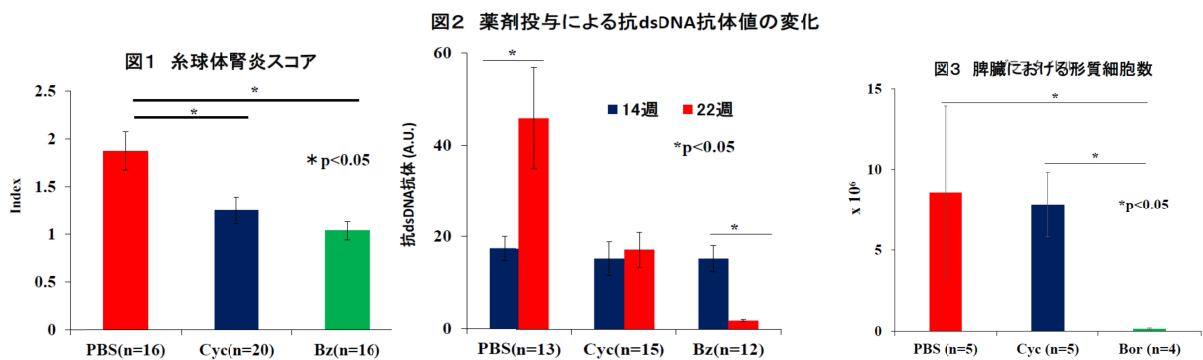
有効性副次評価項目に関する追加解析で、ボルテゾミブ群で12週のSELENA-SLEDAIスコアが0週と比べ有意に低下し、疾患活動性の低下が認められた。

また、SLICC/ACR damage indexによる臓器障害度は両群間に有意差はみられなかったが、ボルテゾミブ群では投与24週で0週と比較して低下した。

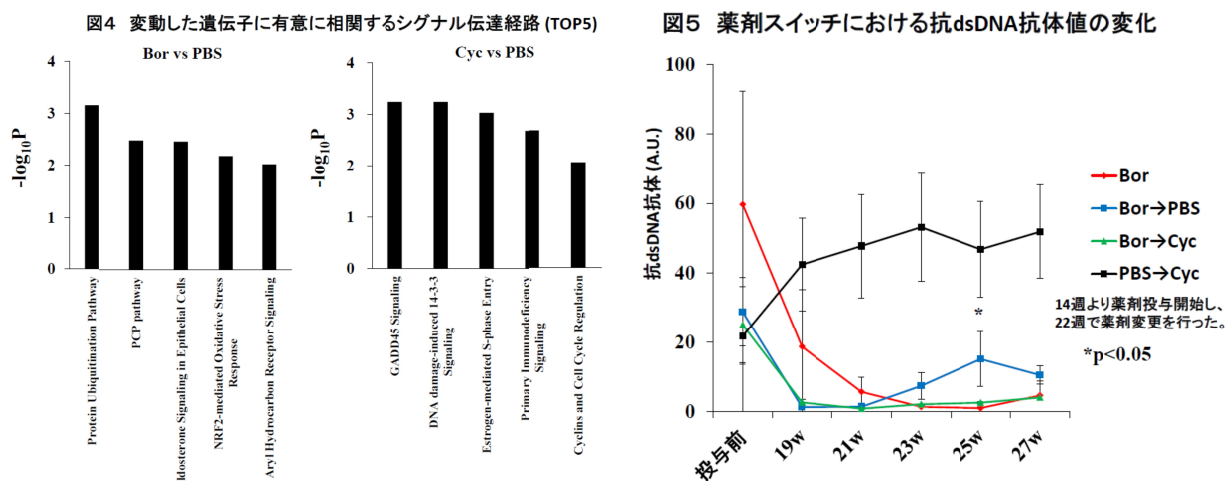
安全性に関しては、プラセボ群に比しボルテゾミブ群で有害事象の発現件数が多く、重篤な有害事象発現例数も多かった。ほとんどの有害事象はボルテゾミブ製剤(ベルケイド®注射用3mg)でみられる事象であったが、血栓性微小血管症は発現した時点ではボルテゾミブの有害事象としては未知であった。血栓性微小血管症の主な臨床症状は血小板減少症、溶血性貧血、腎機能障害であるとされており、これらの症状はボルテゾミブに発現する事象であることから、血栓性微小血管症の発現は予測可能と思われる。

2) SLE モデルマウスに対するボルテゾミブ薬効の再検証

モデルマウスを用いて、SLE におけるボルテゾミブの治療効果の検証とシクロfosファミドとの組み合わせによる寛解維持療法の検証を行った。SLE モデルマウスである MRL/lpr マウス(14週齢)に対して、1.コントロール(PBS注)、2.ボルテゾミブ 750ug/kg 週2回皮下注、3 シクロfosファミド 1mg/body 2週に1回腹腔内注、の3群を設定し薬剤投与実験を行った。糸球体腎炎スコアはコントロール群に比べて、シクロfosファミド、ボルテゾミブ投与群で有意な改善を示したが(図1)、投与前後の血中抗 dsDNA 抗体値(図2)と脾臓の形質細胞数(図3)は、ボルテゾミブ群のみにおいて有意な低下を示した。



ボルテゾミブ、シクロfosファミド投与後 6 時間の脾臓細胞の遺伝子変化をマイクロアレイにて解析したところ、各々177 個、52 個の遺伝子が有意に変動していたが、両薬剤に共通して変動している遺伝子はなかった。各々変動した遺伝子に対して有意に相関するシグナル伝達経路は認められたものの、共通する経路はなかった(図4)。これらのことからボルテゾミブによるループスモデルマウスの治療効果は、シクロfosファミドと異なる機序によると考えられた。また、14 - 22 週にボルテゾミブ投与後、薬剤中止群、ボルテゾミブ投与継続群、シクロfosファミドへの薬剤変更群の3群についての抗 dsDNA 抗体値の比較を行った。薬剤中止群と比較して、シクロfosファミドへの変更群で抗 dsDNA 抗体値の有意な低下が認められた(図5)。



D. 考察

SLE は多彩な自己抗体の産生とそれら抗体の臓器沈着にともなう障害が病態の主体である。したがって SLE の特異的加療として、自己抗体産生を長期に渡り、かつ、効果的に阻止するために B 細胞から形質細胞に至る抗体産生細胞の制御が有用であることが期待される。ボルテゾミブは可逆的かつ特異的なプロテアソーム阻害薬であり、多発性骨髄腫に対する有効性が確立している。ボルテゾミブのプロテアソーム阻害によるユビキチン化タンパクの蓄積は、小胞体ストレスを誘導し (UPR: unfold protein response) アポトーシスを惹起するが、免疫グロブリンをはじめとするタンパク質合成の盛んな形質細胞は UPR を起こしやすく、このため他の細胞よりプロテアソーム阻害剤の感受性が高い。このようなボルテゾミブの作用機序から、多発性骨髄腫だけでなく、自己免疫疾患をはじめとする抗体関連型良性疾患に対しても、ボルテゾミブが有効であることが予想される。実際に、ボルテゾミブの投与により、SLE およびループス腎炎モデルマウスにおいて UPR 活性化により dsDNA 抗体を産生する形質細胞が消失し、ループス腎変の発症が抑制され、生存期間が延長することが報告されている。また、腎移植拒絶症例において、ボルテゾミブは抗胸腺グロブリン、Rituximab に比べ、拒絶反応の原因である抗 HLA 抗体を産生する形質細胞を有意に高くアポトーシスへと導くことが確認されている。

これらの背景をもとに難治性 SLE に対するボルテゾミブの有効性・安全性探索試験を実施した。本試験では、有効性の評価を 8、16、24 週または 12、24 週に行っており、それぞれの項目についてその推移をみると、抗 dsDNA 抗体価ではボルテゾミブ群のプラセボ群に対する変化量、変化率はいずれも投与 8 週、16 週までは増加しているが、ボルテゾミブの投与終了からの後観察期間の長かった 24 週では低下した。一方、補体 C3 および補体 C4 では抗 dsDNA 抗体価の低下とは逆に、活動性の低下を示す上昇傾向を示した。治療反応率は、ボルテゾミブ群の有効例がプラセボ群を上回り、また、ボルテゾミブ群では投与 12 週に SELENA-SLEDAI スコアが低下し、疾患活動性の低下しており、抗 DNA 抗体といった血清学的効果だけでなく、臨床症状を改善させる可能性も示している。再燃 (SELENA-SLEDAI SLE Flare Index) では、24 週においてプラセボ群で軽度または中等度の再燃例が 2 例 (50%) 認められたが、ボルテゾミブ群には再燃例はなかった (0/4 例)。また、主要評価項目 (投与 24 週における抗 dsDNA 抗体価の投与前からの変化量および変化率) について補足的に行った LOCF 解析では、24 週の両群間の変化率の差は 33.77% と大きく、ボルテゾミブ群の効果を考えさせるデータである。このことは中止せざるを得なかった症例で効果がでている可能性があり、主要評価項目 (抗 dsDNA 抗体価) の解析では効果不十分例のみを解析している可能性がある。

また、有害事象については 2 サイクル目の発現件数が 1 サイクル目より著しく減少していることから 2 サイクル目以降の投与が可能であると推察できるが、これは 1 サイクル目で中止に至った症例が除かれた影響も考えられる。中止例でみると、治療

中の有害事象の発現のため投与期間中に中止した症例がボルテゾミブ群で多い一方で、後観察期間においては中止例がプラセボ群で6例中2例と多く、疾患コントロール不十分による治療強化を目的で中止になっているのに対し、ボルテゾミブ群では疾患コントロール不十分での中止例はいなかった。

以上、難治性 SLE に対する、ボルテゾミブ療法については、その有効性を示唆する所見が得られたが、一方で多くの有害事象が認められた。有害事象については投与方法の変更により対処できる可能性があり、今後主要評価項目や投与スケジュールを見直すことで次の治験フェーズに進める可能性があると考えている

E. 結論

医師主導治験である「難治性全身性エリテマトーデスに対するボルテゾミブの有効性・安全性探索試験：第Ⅱ相多施設共同プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験」を実施した。治験総括報告書の完成を待って、次の治験ステップに進むかどうか検討する予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 学会発表
なし
2. 論文発表

- 1) Sampei S, Watanabe R, Ishii T, **Harigae H**.
Granulomatosis with polyangiitis preceded by central diabetes insipidus.
Intern Med. 2014;53(15):1725-6.
- 2) Takada N, Watanabe R, Fujii H, Kamogawa Y, Fujita Y, Shirota Y, Saito S, Ishii T, **Harigae H**.
Pseudothrombocytosis caused by cryoglobulin crystals in a patient with primary Sjögren's syndrome.
Mod Rheumatol. 2014 Jun 20:1-2.
- 3) Watanabe R1, Ishii T, Kobayashi H, Asahina I, Takemori H, Izumiyama T, Oguchi Y, Urata Y, Nishimaki T, Chiba K, Komatsuda A, Chiba N, Miyata M, Takagi M, Kawamura O, Kanno T, Hirabayashi Y, Konta T, Ninomiya Y, Abe Y, Murata Y, Saito Y, Ohira H, **Harigae H**, Sasaki T.

Prevalence of hepatitis B virus infection in patients with rheumatic diseases in Tohoku area: a retrospective multicenter survey.

Tohoku J Exp Med. 2014;233(2):129-33.

4) Watanabe R, Fujii H, Shirai T, Saito S, Ishii T, Harigae H.

Autophagy plays a protective role as an anti-oxidant system in human T cells and represents a novel strategy for induction of T-cell apoptosis.

Eur J Immunol. 2014 Aug;44(8):2508-20.

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし