

- Walker BD: Marked epitope- and allele-specific differences in rates of mutation in human immunodeficiency type 1 (HIV-1) Gag, Pol, and Nef cytotoxic T-lymphocyte epitopes in acute/early HIV-1 infection. *J Virol* 2008, **82**(18):9216–9227.
29. Tokunaga K, Ishikawa Y, Ogawa A, Wang H, Mitsunaga S, Moriyama S, Lin L, Bannai M, Watanabe Y, Kashiwase K, Tanaka H, Akaza T, Tadokoro K, Juji T: Sequence-based association analysis of HLA class I and II alleles in Japanese supports conservation of common haplotypes. *Immunogenetics* 1997, **46**(3):199–205.
30. Kawana-Tachikawa A, Tomizawa M, Nunoya J, Shioda T, Kato A, Nakayama EE, Nakamura T, Nagai Y, Iwamoto A: An efficient and versatile mammalian viral vector system for major histocompatibility complex class I/peptide complexes. *J Virol* 2002, **76**(23):11982–11988.
31. York-Higgins D, Cheng-Mayer C, Bauer D, Levy JA, Dina D: Human immunodeficiency virus type 1 cellular host range, replication, and cytopathicity are linked to the envelope region of the viral genome. *J Virol* 1990, **64**(8):4016–4020.
32. Shioda T, Levy JA, Cheng-Mayer C: Macrophage and T cell-line tropisms of HIV-1 are determined by specific regions of the envelope gp120 gene. *Nature* 1991, **349**(6305):167–169.
33. Kuzushima K, Hayashi N, Kimura H, Tsurumi T: Efficient identification of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus-specific CD8(+) T-cell epitopes by a computer algorithm and an enzyme-linked immunospot assay. *Blood* 2001, **98**(6):1872–1881.
34. Cole DK, Rizkallah PJ, Gao F, Watson NI, Boulter JM, Bell JI, Sami M, Gao GF, Jakobsen BK: Crystal structure of HLA-A*2402 complexed with a telomerase peptide. *Eur J Immunol* 2006, **36**(1):170–179.
35. Otwinowski Z, Minor W: Processing of X-Ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode Macromolecular Crystallography. *Methods Enzymol* 1997, **276**:307–326.
36. Winn MD, Ballard CC, Cowtan KD, Dodson EJ, Emsley P, Evans PR, Keegan RM, BKE, Leslie AGW, McCoy A, McNicholas SJ, Murshudov GN, Pannu NS, Potterton EA, Powell HR, Read RJ, Vagin A, Wilson KS: Overview of the CCP4 suite and current developments. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr* 2011, **67**:235–242.
37. Vagin A, Teplyakov A: MOLREP: an Automated Program for Molecular Replacement. *J Appl Cryst* 1997, **30**:1022–1025.
38. Emsley P, Cowtan K: Coot: model-building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2004, **60**(Pt 12 Pt 1):2126–2132.
39. Lovell SC, Davis IW, Arendall WB 3rd, de Bakker PI, Word JM, Prisant MG, Richardson JS, Richardson DC: Structure validation by Calpha geometry: phi, psi and Cbeta deviation. *Proteins Struct Funct Genet* 2003, **50**(3):437–450.

doi:10.1186/1742-4690-11-38

Cite this article as: Han *et al.*: Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection. *Retrovirology* 2014 **11**:38.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



症例報告

BK ウイルス腎症の診断と治療に苦慮した小児腎移植の1例

東京女子医科大学腎臓小児科¹⁾, 同腎センター病理部²⁾, 川崎市立多摩病院病理診断科³⁾,
東京女子医科大学第二病理学⁴⁾

石塚喜世伸¹⁾, 浅野達雄¹⁾, 西山 慶¹⁾, 宮井貴之¹⁾, 神田祥一郎¹⁾, 菅原典子¹⁾,
近本裕子¹⁾, 秋岡祐子¹⁾, 堀田 茂²⁾, 小池淳樹³⁾, 本田一穂⁴⁾, 服部元史¹⁾

要旨：生体腎移植後に、急性細胞性拒絶反応との鑑別および治療に苦慮したBK ウイルス (BK virus : BKV) 腎症の小児例を経験したので報告する。症例は6歳男児。血液型一致生体腎移植1ヵ月後より尿中 decoy cell が出現、移植3ヵ月後に血清BKV DNA 値が軽度増加した。SV40 陽性細胞を伴う尿細管炎および尿細管間質炎を呈しBKV 腎症と判断したが細胞性拒絶反応との鑑別に苦慮し、治療はミコフェノール酸モフェチル (mycophenolate mofetil : MMF) の軽度減量に留めたが無効であり、タクロリムス (tacrolimus : TAC) よりシクロスポリン A (Cyclosporin A : CyA) へ変更し初めてBKV 腎症の進展を抑制できた。BKV 腎症のリスクを有し組織所見よりBKV 腎症を疑った場合、血清BKV DNA 値が先行的治療開始基準を下回っていても免疫抑制薬の調整を積極的に検討すべきであると考えられた。

キーワード 小児腎移植, BK ウイルス腎症, 拒絶反応, タクロリムス, ミコフェノール酸モフェチル

緒言

カルシニューリン阻害薬 (calcineurin inhibitor : CNI) やミコフェノール酸モフェチル (mycophenolate mofetil : MMF) など、免疫抑制薬の発展により移植腎の短期予後は著しく改善してきている¹⁾。その一方で、小児例ではサイトメガロウイルス (CMV) やEBウイルス (EBV), BK ウイルス (BKV) などのウイルスに未感染のまま腎移植を施行されることが多く、免疫抑制により移植後にグラフトとともに持ち込まれたウイルスの活性化をきたすことがある²⁾。BKV 腎症では、BKV に対する有効な抗ウイルス薬は日本では未承認であり、その治療法は免疫抑制薬の減量が主体となるが、約半数が移植腎機能廃絶に至るとされ治療に難渋することがある³⁾。また、BKV 腎症は病理組織所見が拒絶反応と類似しているため、鑑別が困難であり、治療方針決定に苦慮することがある。今回われわれは、祖父をドナーとする血液型一致生体腎移植を施行され、移植後にグラフトとともに持ち込まれたCMV およびBKV

の活性化を呈し、BKV 腎症の診断と治療に苦慮した1例を経験したので報告する。

症例

症例：6歳男児、身長111.0cm (-0.93SD)、体重19.8kg (-0.41SD)。

家族歴：特記事項なし。

既往歴：特記事項なし。

現病歴 (図1)：両側低形成腎を原疾患として末期腎不全に進行したため、64歳の祖父をドナーとして血液型一致の先行的生体腎移植が施行された。リンパ球クロスマッチはフローサイトメトリーを含め陰性、抗ドナー抗体も陰性であった。初期免疫抑制はバシリキシマブ、タクロリムス (TAC), MMF, メチルブレドニゾロンにて施行した。なお、祖父はEBV, CMV いずれも既感染でIgG 抗体を有しており、本人はいずれも未感染であった。

移植1ヵ月後にCMV アンチゲネミアが陽性となり、ほぼ同時期より尿中 decoy cell が出現し持続した。ガンシクロビル (GCV) 点滴静注による治療

連絡先
石塚喜世伸
〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1

論文受付 平成 26 年 10 月 10 日
同 受理 平成 26 年 10 月 22 日

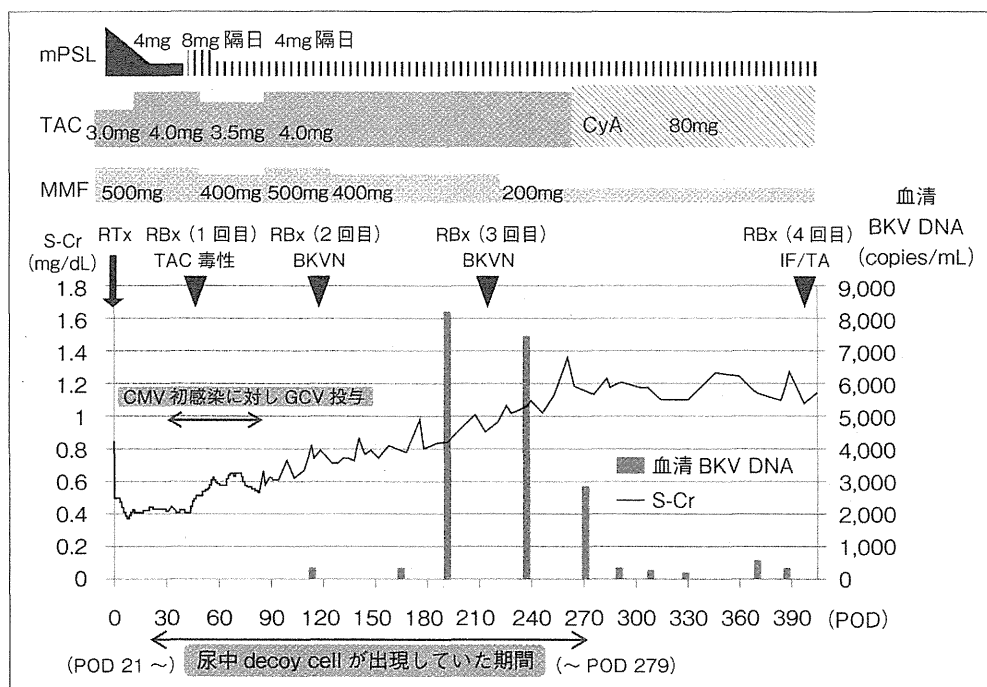


図1 本症例の臨床経過

mPSL : methylprednisolone, TAC : tacrolimus, CyA : cyclosporine A, MMF : mycophenolate mofetil, RTx : renal transplantation, RBx : renal biopsy, S-Cr : serum creatinine, BKVN : BK virus nephropathy, IF/TA : interstitial fibrosis/tubular atrophy, CMV : cytomegalovirus, GCV : ganciclovir, POD : post operation day

を開始し、MMFを減量した。MMF減量後、血清クレアチニン (S-Cr) 値が0.38mg/dLより0.62mg/dLまで上昇したため、移植2ヵ月後に初回移植腎生検を施行したところ、限局性の尿細管上皮の泡沫状変性と、尿細管間質の拡大と線維化を約20%に認め、CNI毒性と診断し、血中トラフ濃度8ng/mLを目標に調整していたTAC内服量を血中トラフ濃度4ng/mLを目標に減量した。その約1ヵ月後にCMV IgGは陽転しGCV投与を中止した。MMFを増量し、TACについては血中トラフ濃度が4ng/mL以下であったため、拒絶反応の可能性を憂慮して3.5mg/dayから4mg/dayまで内服量を増量したが、血中トラフ濃度は上昇せず4ng/mL以下を推移した。この間尿中decoy cellは持続しており、S-Crが0.83mg/dLまで上昇し、血清BKV DNAが240copies/mLと基準値(100copies/mL)以上まで増加したため、BKV腎症の診断目的に移植3ヵ月後に2回目の移植腎生検を施行した(図2A, B)。中等度の尿細管炎を認めBKV腎症と急性細胞性拒絶反応との鑑別を要したが、SV40陽性細胞を尿細管炎部位に一致して認めたことからBKV腎症stage B⁴⁾(尿細管間質病変が10~50%)と判断した。血清BKV DNA値が1,000copies/mLに満たず、急性細胞性拒絶反応が完全に否定できなかったため、

MMFの減量を20%に留め経過観察した。しかしS-Crがさらに上昇し続け1.06mg/dLとなり、血清BKV DNAが8,100copies/mLまで上昇したため、移植7ヵ月後に3回目の移植腎生検を施行した(図2C, D)。腫大した核を有する尿細管上皮を伴う尿細管間質炎と、同部位にSV40陽性細胞を多数認めBKV腎症stage C⁴⁾(尿細管間質病変が50%以上)と診断し、米国移植学会 Infectious Diseases Community of Practiceの推奨に従い⁵⁾、MMFを50%減量した。しかしその1ヵ月後も血清BKV DNA値は7,400copies/mLと依然高値であり、S-Crが1.37mg/dLまで上昇したため、CNIをTACよりシクロスポリンA (CyA)に変更し内服2時間後血中濃度を500ng/mL前後に維持したところ、その後はS-Crの上昇を認めず、血清BKV DNAは170copies/mLまで減少した。移植13ヵ月後にフォローアップの移植腎生検(4回目)を施行したところ、Banff分類ではi1, t1, v0, g0, ptcl, ci3, ct3, cv0, cg0, ptcbm0, ah0, aah0, c4d0であり、60%程の尿細管萎縮および間質の線維化を認めるものの尿細管炎はほとんどみられず、SV40陽性細胞も認められなかった。

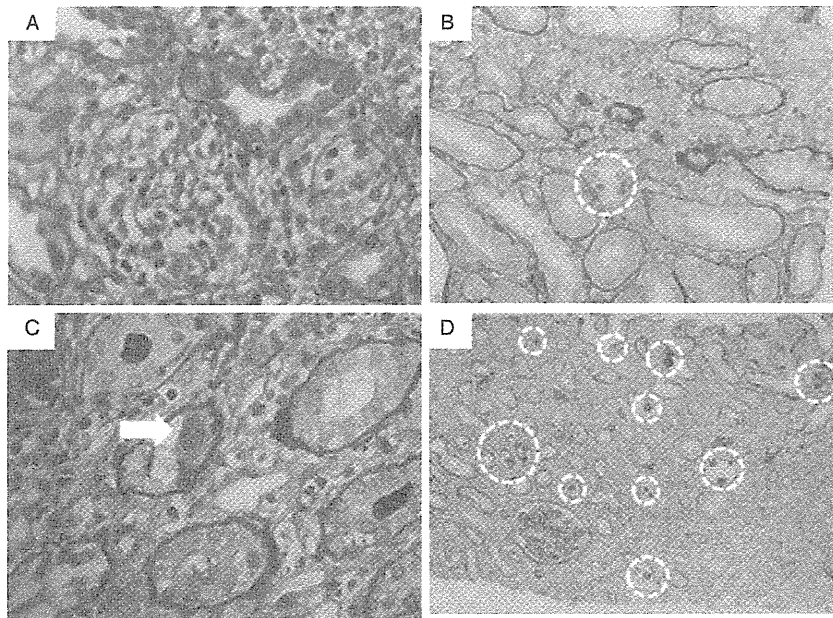


図2 移植後2回目 (A, B) と3回目 (C, D) の腎生検組織所見
 A: 限局的に間質炎および尿細管炎を認める (PAS 染色, $\times 150$)。
 B: SV40 large T 抗原免疫染色陽性尿細管上皮細胞 (白丸) を認める (SV40 染色と PAS 染色の二重染色, $\times 150$)。
 C: BKV 腎症の特徴的な所見であるスリガラス様の核内封入体を有する腫大した尿細管上皮細胞 (矢印) を認める (PAS 染色, $\times 300$)。
 D: SV40 large T 抗原免疫染色で陽性所見を示すウイルス感染尿細管細胞 (白丸) を認める。前回腎生検病理組織より著明に増加している (SV40 染色と PAS 染色の二重染色, $\times 100$)。

考 察

BKV は小児期に初感染し、一般成人の抗体陽性率は 90% 以上といわれており、高い不顕性感染を示す。腎移植によりドナーより持ち込まれた BKV が免疫抑制下に活性化し BKV 腎症を発症すると約 40～70% が移植腎機能廃絶に至るとされており、腎移植患者における重要な感染症の 1 つである⁶⁾。とくに小児領域では、BKV 血症は小児腎移植患者の 5～16% に生じるといわれている^{7, 8)}。BKV 血症のうち 2～8% が BKV 腎症に進展する⁴⁾。BKV 腎症発生のリスクファクターとしては、ドナーが BKV 抗体陽性でレシピエントが BKV 抗体陰性である組み合わせの他、ドナー側要因として女性、献腎移植、虚血再灌流障害、HLA ミスマッチ数、黒色人種が、レシピエント側要因として高年齢、男性が、移植後要因として急性拒絶反応や拒絶反応に対する治療歴、ステロイド暴露の蓄積、抗リンパ球抗体治療、高い免疫抑制薬血中濃度、TAC 使用などがあげられている⁴⁾。ほか、尿管狭窄に起因する閉塞性腎症がリスクファクターであったとする報告が散見される^{9～11)}。成人の BKV 抗体保有率は 80% 以上であり、平均して 4 歳から 5 歳の小児期に抗体

が陽転化するとの報告がある¹²⁾。レシピエントの年齢は 6 歳であり、この抗体が陽転化する時期と非常に近接しており、患児がまだ BKV 抗体陰性だった可能性も十分考えられる。このことから、本移植は BKV 抗体陽性例から陰性例への移植であった可能性は高いと思われる。また本症例では、レシピエントが男性であること、CNI として TAC を使用していたこともリスクファクターとして当てはまるが、尿管狭窄など泌尿器科的合併症は認めなかった。なお、CNI の血中濃度については、TAC は、免疫抑制導入期は血中トラフ濃度を 8ng/mL 前後に維持したものの、CMV アンチゲネミア陽転後以降は 4ng/mL 以下を推移しており、CyA については、内服 2 時間後血中濃度を 500ng/mL 前後に維持しており CNI 血中濃度は高値ではないと言える。このことから、本症例では CNI 血中濃度は BKV 腎症のリスクファクターではないと考えられる。

BKV 腎症は腎移植患者の約 5% に、移植後 1 年以内に発生するといわれ、その病理組織学的所見は、尿細管間質への単核球細胞浸潤、尿細管の萎縮や尿細管間質の線維化を特徴とする^{6, 13)}が、急性細胞性拒絶反応と類似の組織所見を呈するため、時に両者の鑑別が困難となる⁴⁾。この場合、好塩基性

の核内封入体を有する腫大した核を有する尿細管上皮や、SV40陽性細胞の検出が鑑別点となるがサンプリングの問題があり、BKV腎症において必ずしもこれらの所見が得られるとは限らない。本症例でも、2回目の移植腎生検の時点では好塩基性の核内封入体を有する腫大した核を有する尿細管上皮を認めなかったが、SV40 large T抗原免疫染色陽性尿細管上皮細胞を単核球浸潤部位に認めたため、病理組織診断はBKV腎症と判断したが、急性細胞性拒絶反応との病理組織のみでの厳密な鑑別は困難であった。また、BKV腎症では、血清BKV DNA値が10,000copies/mL以上のBKV血症では、腎生検での診断を待たずに先行的に治療を開始することが奨励されている⁴⁾が、この時点では血清BKV DNA量は240copies/mLと10,000copies/mLを大きく下回ったこともあり、推奨されている程の免疫抑制薬の減量には踏み切れなかった。一方、3回目の移植腎生検では、核内封入体を有する腫大した核を有する尿細管上皮細胞というBKV腎症に特徴的な所見や、SV40陽性細胞を尿細管間質への単核球浸潤部位に一致して認めたことや血清BKV DNAが240copies/mLから8,100copies/mLと10,000copies/mLに近い値まで急増したことからBKV腎症との診断に至った。

BKV腎症の治療は免疫抑制薬の減量もしくは中止、CNIの変更などが有効とされ、細胞性拒絶反応とは逆の治療が必要となる。米国移植学会 Infectious Diseases Community of Practiceの推奨⁵⁾では、BKV腎症に対する治療として代謝拮抗薬の50%減量と、CNIの25～50%減量、さらに必要に応じて代謝拮抗薬の中止が推奨されている。抗ウイルス薬(Leflunomide:日本では未承認)^{14, 15)}や免疫グロブリン製剤^{16, 17)}が有効であったとする報告が散見されるが補助的治療法としては確立していない。本症例においても、2回目の移植腎生検の時点では急性拒絶反応との鑑別は困難であった。このため免疫抑制薬の減量は慎重にせざるを得ず、結果的に血清BKV DNA値とS-Crの上昇を招いた。3回目の移植腎生検では、明らかなBKV腎症と診断したため推奨されている免疫抑制薬の減量法⁵⁾に従い、MMFを50%減量したが、臨床経過としては無効であった。結果として、BKV腎症への治療としてMMF減量に加えて、CNIのTACからCyAへの変更が必要であった。

BKV腎症では、BKV血症を伴わないBKV尿症のみでBKV腎症を呈した症例も報告されており¹⁸⁾、BKV尿症単独でもBKV腎症である可能性

がある。本症例では2回目の移植腎生検の時点で血清BKV DNA値は240copies/mLと10,000copies/mLに到達していなかったが、結果としてこれ以降S-Cr値が上昇を続け、移植腎病理組織でも尿細管の萎縮と尿細管間質の線維化の進行を招いたことを考えれば、2回目の移植腎生検の時点で先行的な治療を開始すればその後のBKV腎症の進展を防げた可能性は否定できない。本症例の結果より、血清BKV DNA値が先行的な治療開始基準である10,000copies/mL以下であっても、BKV腎症のリスクを有する症例において移植腎生検組織でSV40 large T細胞免疫染色陽性細胞を伴う尿細管間質炎を呈した場合、BKV腎症の先行的な治療として免疫抑制薬の減量や、CNIをTACからCyAに変更することを検討すべきと考えられた。

結 論

生体腎移植後にBKV腎症と急性細胞性拒絶反応の鑑別が困難であった小児例を経験した。本症例の経過より、BKV腎症のリスクを有する腎移植例で、移植腎機能が悪化し移植腎病理組織においてBKV腎症を示唆する所見が得られた場合には、血清BKV DNA値が先行的な治療開始基準を下回っていても、免疫抑制薬の調整を積極的に検討すべきであると考えられた。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- 1) 服部元史. 腎移植と小児慢性腎不全治療. 日腎会誌 2005; 47: 17-25.
- 2) Smith JM, McDonald RA, Finn LS, et al. Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2004; 4: 2109-17.
- 3) Nickleit V, Hirsch HH, Zeiler M, et al. BK-virus nephropathy in renal transplants: tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 324-32.
- 4) Kidney Disease. Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: S1-S155.
- 5) Hirsch HH, Randhawa P. BK virus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: S136-S146.
- 6) Sawinski D, Goral S. BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 1-9.

- 7) Zaman RA, Ettenger RB, Cheam H, et al. A novel treatment Regimen for BK viremia. *Transplantation* 2014 ; 97 : 1166-71.
- 8) Acott PD. Polyoma virus in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2006 ; 10 : 856-60.
- 9) Acott PD, Hirsch HH. BK virus infection, replication, and diseases in pediatric kidney transplantation. *Pediatr Nephrol* 2007 ; 22 : 1243-50.
- 10) Rajpoot DK, Gomez A, Tsang W, et al. Ureteric and urethral stenosis : A complication of BK virus infection in a pediatric renal transplant patient. *Pediatr Transplant* 2007 ; 11 : 433-5.
- 11) Chang CY, Gangji A, Chorneyko K. Urological manifestations of BK polyomavirus in renal transplant recipients. *Can J Urol* 2005 ; 12 : 2829-36.
- 12) Stolt A, Sasnauskas K, Koskela P, et al. Seroepidemiology of the human polyomaviruses. *J Gen Virol* 2003 ; 84 : 1499-504.
- 13) Matossian D, Langman CB, Cohn RA, et al. Obstructive uropathy is associated with polyomavirus viremia in pediatric kidney transplantation. *Pediatr Transplant* 2012 ; 16 : 729-34.
- 14) Teschner S, Gerke P, Geyer M, et al. Leflunomide therapy for polyomavirus-induced allograft nephropathy : Efficient BK virus elimination without increased risk of rejection. *Transplant Proc* 2009 ; 41 : 2533-8.
- 15) Jung YH, Moon KC, Ha JW, et al. Leflunomide therapy for BK virus allograft nephropathy after pediatric kidney transplantation. *Pediatr Transplant* 2013 ; 17 : E50-4.
- 16) Sener A, House AA, Jevnikar AM, et al. Intravenous immunoglobulin as a treatment for BK virus associated nephropathy : one-year follow-up of renal allograft recipients. *Transplantation* 2006 ; 81 : 117-20.
- 17) Sharma AP, Moussa M, Casier S, et al. Intravenous immunoglobulin as rescue therapy for BK virus nephropathy. *Pediatr Transplant* 2009 ; 13 : 123-9.
- 18) Purighalla R, Shapiro R, McCauley J, et al. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. *Am J Kidney Dis* 1995 ; 26 : 671-3.



Risk Factors of Cytomegalovirus Infection After Pediatric Liver Transplantation

Y. Kawano^{a,*}, K. Mizuta^b, Y. Sanada^b, T. Urahashi^b, Y. Ihara^b, N. Okada^b, N. Yamada^b, H. Sasanuma^c, Y. Sakuma^c, N. Taniai^a, H. Yoshida^a, H. Kawarasaki^b, Y. Yasuda^c, and E. Uchida^a

^aDepartment of Surgery, Nippon Medical School, Tokyo, Japan; ^bDepartment of Transplant Surgery, Jichi Medical University, Tochigi, Japan; and ^cDepartment of Surgery, Jichi Medical University, Tochigi, Japan

ABSTRACT

Purpose. Cytomegalovirus (CMV) infection is known to be the most frequently viral infection among patients after liver transplantation. This is especially true in pediatric living-donor liver transplantation because the recipients have often not been infected with CMV and postoperative primary infection with CMV frequently occurs.

Patients and Methods. Of 93 patients who underwent pediatric liver transplantation at our department, 33 patients (36.3%) were diagnosed with CMV infection using the antigenemia method (C7-HRP). Retrospective review and statistical analysis were conducted to confirm risk factors of post-transplantation CMV infection.

Result. Positive lymphocytes were diagnosed between postoperative days 8 and 111 after transplantation. Ganciclovir or foscavir were administered to 21 patients. The other 10 patients who had one positive lymphocyte were observed and the cell disappeared on follow-up examination. We did not observe any cases of positive lymphocytes with C7-HRP in patients who received a graft from a CMV antibody–negative donor. Independent predictors associated with CMV infection in the multivariable analysis were administration of OKT3 and grafts from CMV antibody–positive donors.

Conclusion. In CMV infection after pediatric liver transplantation, cases with CMV antibody–positive donors and with OKT3 administration for acute rejection are considered high risk, and cases with CMV antibody–negative donors are considered low risk.

CYTOMEGALOVIRUS (CMV) infection is the most common viral infection after liver transplantation (LT). CMV infection is associated with an increased predisposition to acute and chronic allograft rejection and other opportunistic infections as well as reduced overall patient and allograft survival. Postoperative primary infection with CMV frequently occurs after pediatric LT because of the lack of a pre-existing CMV-specific immunity. Risk factors for CMV infection are often interrelated and include CMV D+/R–serostatus, acute rejection, gender, age, use of high-dose mycophenolate mofetil (MMF) and prednisone, and the overall state of immunity. Because of the direct and indirect adverse effects of CMV infection, its prevention, whether through antiviral prophylaxis or pre-emptive therapy, is an essential component in improving the outcome of LT.

In this study, we reviewed our patients to elucidate risk factors of CMV infection after pediatric living-donor LT (LDLT).

PATIENTS AND METHODS

The medical records of all children who underwent LDLT at the Department of Transplant Surgery, Jichi Medical University between 2001 and 2006 were reviewed. Of 91 patients, 33 (36.3%) were diagnosed with CMV infection: the number of positive cells in a blood sample was calculated out of 50,000 lymphocytes and more than 1 pp65-positive lymphocyte was confirmed. Then, retrospective review and statistical analysis were performed to confirm risk factors of post-transplantation CMV infection. Subjects were eligible for inclusion if both CMV donor and recipient serostatus were documented. Approval for this study was provided by the Jichi Medical University Institutional Review Board.

*Address correspondence to Youichi Kawano, MD, Department of Surgery, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan. E-mail: y-kawano@nms.ac.jp

Induction immunosuppression consisted of calcineurin inhibitors (cyclosporine [n = 18] or tacrolimus [n = 73]) and steroids (methylprednisolone). No postoperative prophylactic therapy for CMV was administered. Patients who underwent transplantation received CMV hyperimmunoglobulin for 3 days (5 g for recipients weighing more than 25 kg and 2.5 g for recipients weighing less than 25 kg) after the transplantation and once a week postoperatively. For the purposes of this study, acute rejection was defined as any increase in transaminase levels that was determined by the transplantation surgeon to be clinically compatible with rejection and was treated with steroid pulse therapy (20 mg/kg) with/without MMF administration. In cases of steroid-resistant rejection, repeated steroid pulse therapy with MMF and/or administration of muromonab-CD3 (OKT3) was conducted. We now treat steroid-resistant acute rejection using antithymocyte globulin because of the unavailability of OKT3 on the market. In addition, 43 patients were administered aciclovir for herpes simplex virus after transplantation and no prophylaxis for CMV was conducted. It is our policy not to perform prophylaxis for CMV due to the adverse effects of prophylactic drugs and the late onset of CMV disease. CMV screening using the antigenemia method (pp65) was performed 3 weeks after transplantation and weekly for the first 2 postoperative months. Asymptomatic CMV viremia was defined as detectable pp65 positive cells without signs or symptoms of active infection. CMV disease was defined as detectable pp65-positive cells with fever and cytopenia. Any patient with fever, respiratory symptoms, diarrhea, vomiting, unexplained weight loss, cytopenia, or transaminitis underwent a thorough laboratory evaluation for CMV and Epstein-Barr virus. Our strategy for CMV infection is summarized in Fig 1. We changed treatment according to the number of pp65-positive cells. If the positive cell number was more than 10 in 50,000 cells, intravenous ganciclovir (5 mg/kg twice daily) and CMV hyperimmunoglobulin administration with/without

reduction of immunosuppression were conducted as hospital treatment. Patients were re-examined 1 week after treatment: if the positive cell number had not increased, the treatment was continued until the positive cell number decreased to less than 3 in 50,000 cells. Whereas if an increase in the number of positive cells was confirmed, intravenous foscarnet sodium hydrate (90 mg/kg twice daily) administration was conducted until the number of positive cells decreased to less than 3 in 50,000 cells. If the positive cell number was 5 or more and less than 10 in 50,000 cells in the outpatient clinic, oral valganciclovir (20 to 25 mg/kg twice daily) administration with/without reduction of immunosuppression was conducted. Patients were re-examined 2 to 4 weeks after treatment, if the positive cell number was less than 10 in 50,000 cells, the treatment continued until the positive cell number decreased to less than 3 in 50,000 cells. If the positive cell number was more than 10 in 50,000 cells, the patient was hospitalized and intravenous treatment was conducted. If the positive cell number was less than 5 in 50,000 cells with clinical symptoms such as increased fever and/or liver dysfunction or the positive cell number was 5 or more and less than 10 in 50,000 cells in hospitalized patients, oral valganciclovir (20 to 25 mg/kg twice daily) administration or intravenous ganciclovir (5 mg/kg twice daily) with CMV hyperimmunoglobulin administration with/without reduction of immunosuppression was conducted. Patients were re-examined 1 week after treatment, if the positive cell number had not increased to twice the initial value, the treatment continued until the positive cell number decreased to less than 3 in 50,000 cells. If the positive cell number had increased to more than twice the initial value, intravenous foscarnet sodium hydrate (90 mg/kg twice daily) administration was conducted until the number of positive cells decreased to less than 3 in 50,000 cells. CMV serostatus was determined pre-transplantation by CMV immunoglobulin G in children older than 1 year and the donor.

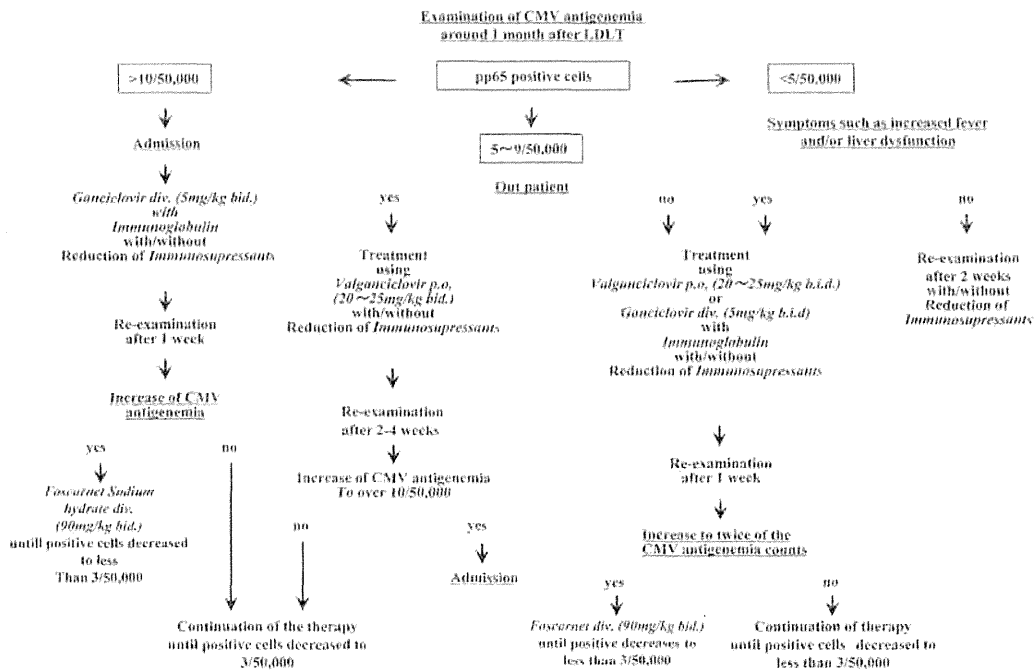


Fig 1. Examination of cytomegalovirus antigenemia approximately 1 month after living-donor liver transplantation.

Table 1. Patient Characteristics

Age	36.5 ± 42.8 Months	POD from LDLT	
Sex	M:F = 9:24	Average	38.5 ± 15.3 days
		Median	35
		Range	8-98
Primary disease	n	Period from steroid pulse (n = 22)	
Biliary atresia	22	Average	22.5 ± 19.5 days
Fulminant hepatic failure	3	Median	19.5
Ornithine Transcarbamylase deficiency	3	Range	4-89
Graft failure	2	CMV disease	60.6% (n = 20)
Others	3	Fever up	66.7% (n = 14)
Mortality (hemophagocytic syndrome, <i>Pneumocystis carinii</i>)	5.9% (n = 2)	Liver dysfunction	60.0% (n = 12)
Treatment	n		n
Valganciclovir or ganciclovir p.o.	7	Ganciclovir div.	8
Valganciclovir or ganciclovir p.o. + ganciclovir div.	5	Foscarnet div.	7
		No treatment	7

Statistical Analysis

All data analysis was completed with SPSS 15.0 software (SPSS, Inc., Chicago, Ill, United States). Subject groups were compared for categorical variables by χ^2 test and contingency table analysis. Subject groups were compared for continuous variables by Student *t* test for normally distributed data or by nonparametric Mann-Whitney U test to account for skewed distributions. In general, analyses of non-normally distributed data by both Student *t* test and Mann-Whitney U test resulted in similar conclusions. Univariable and multivariable stepwise Cox proportional hazard models were used to assess associations between covariates and CMV infection. *P* values were calculated as two tailed, with an alpha of less than .05 designating statistical significance.

RESULTS

Patient Characteristics

From 2001 to 2006, 93 LDLTs (including two liver retransplantations) were performed and complete clinical data were available for all patients. Age at transplantation ranged from 6 to 198 months with a median of 15.5 months. Two patients died due to antibody negative hemophagocytic syndrome and *Pneumocystis carinii*, respectively. The ratio of CMV antigen negative donors (31.4 ± 6.2 years old, median: 31 years old, range: 23 to 53 years old) among all donors (34.4 ± 7.2 years old, median: 33 years old, range: 23 to 58 years old) was 22.6% (n = 21). Thirty-three patients (36.3%) were diagnosed with CMV infection when more than one pp65 positive lymphocyte was confirmed in a blood sample. Indications for transplantation included extrahepatic biliary atresia (22 patients), fulminant hepatic failure (3), ornithine transcarbamylase (3), graft failure (2), or other (3) (Table 1).

CMV infection confirmed by more than one pp65-positive lymphocyte in a blood sample was diagnosed postoperatively within 8 to 98 days with a median of 35 days. Twenty-one patients were treated with steroid pulse therapy for acute rejection and CMV infection was diagnosed 4 to 89 days after therapy with a median of 18 days. CMV disease was diagnosed as CMV infection with clinical symptoms such as fever (n = 14) and/or liver dysfunction (n = 12) and the ratio was 60.6% (n = 21). Selected treatment types were per os

valganciclovir or ganciclovir in 7 patients, intravenous administration of ganciclovir and per os valganciclovir or ganciclovir in 5 patients, intravenous administration of foscarnet in 7 patients and no treatment in 7 patients. The ratio of CMV antigen negative donors (31.4 ± 6.2 years old, median: 31 years old, range: 23 to 53 years old) among all donors (34.4 ± 7.2 years old, median: 33 years old, range: 23 to 58 years old) was 22.6% (n = 21).

Univariable and multivariable analyses of factors associated with CMV infection are shown in Tables 2 and 3. In univariable analysis (Table 2), except for biliary atresia (*P* = .027) in primary disease factors, OKT3 administration (*P* = .002) in immunosuppressant factors and CMV-seronegative recipients of liver allografts from CMV-seropositive donors (CMV D+/R-; *P* < .001) in CMV serostatus were associated with a higher risk of CMV infection. In subsequent multivariable analysis (Table 2) using a stepwise approach that accounted for biliary atresia, steroid

Table 2. Univariable and Multivariable Analyses of Factors Associated With CMV Infection

Risk Factor	<i>P</i> Value	Odds Ratio	95% CI
Univariable Analysis			
Primary disease			
Biliary atresia	.014	0.288	0.103-0.801
Fulminant hepatic failure	.255	2.758	0.437-17.399
Graft failure	.301	3.625	0.316-41.546
Immunosuppressant			
Steroid pulse	.038	2.493	1.042-5.967
OKT3	.004	8.769	1.740-44.198
MMF	.592	1.285	0.512-3.224
Tacrolimus	.506	0.752	0.158-3.577
CMV antibody			
Donor (+) recipient (-)	.000	13.750	4.070-46.454
Donor (+) recipient (+)	.511	0.750	0.317-1.772
Others			
ABO-incompatible	.089	2.8	0.813-9.648
Aciclovir	.108	0.493	0.207-1.175
Multivariable Analysis			
OKT3	.004	8.769	1.740-44.198
Donor (+) recipient (-)	<.001	12.853	0.512-3.224

Table 3. Results of Contingency Table Analysis for Comparison of Serostatus of the Donors and Recipients

CMV Serostatus	CMV Infection (+)	CMV Infection (-)
D(-), R(-)	0	13
D(+), R(-)	17	4*
D(-), R(+)	0	8
D(+), R(+)	17	34*

CMV Disease	CMV Disease (+)	CMV Disease (-)
D(+), R(+)**	8	9
D(+), R(-)**	13	3

OKT3	CMV Infection (+)	CMV Infection (-)
With	8	2
Without	25	56

* $P < .001$, odds ratio: 8.5.** $P = .041$, odds ratio: 4.88.

pulse therapy, OKT3 administration, CMV D+/R- and ABO-incompatibility, OKT3 administration and CMV D+/R- reached independent predictor status.

In contingency table analysis for the serostatus of the donors and recipients, the frequency of pp65-positive cell appearance was significantly higher in the D+/R- group than in the D+/R+ group. No pp65-positive cells were detected in the groups with CMV-negative donors ($P < .001$, odds ratio: 8.5; Table 3). The incidence of CMV disease appearance was significantly higher in group D+/R- than in group D+/R+ ($P = .041$, odds ratio: 4.88; Table 3). In patients who received OKT3 administration, no pp65-positive cells were detected in the two patients whose donors did not have CMV antibodies (Table 3).

Regarding the therapeutic efficiency of foscarnet sodium hydrate in this study, 8 patients (29.6%) of those receiving medication ($n = 27$) received foscarnet. The number of pp65-positive cells sometimes increased after ganciclovir administration; however, all patients who received foscarnet administration experienced a decrease in pp65-positive cells by approximately 1 week after administration.

DISCUSSION

The results of this retrospective study of pediatric LDLT suggest that CMV D+/R- pediatric LDLT and OKT3 administration for acute rejection are considered independent predictors of high risk for CMV infection by multivariable analysis. Our therapeutic strategy for CMV infection in patients confirmed that using the antigenemia method may be reasonable after LDLT.

CMV remains the most common viral infection that occurs after pediatric LT and the infection plays a major role in morbidity and mortality [1]. The incidence is highest in the first 6 weeks after LT in particular [2]. Recently, improvements in diagnostic testing, immunosuppression, and CMV disease therapy have led to a significant reduction in post-LT CMV-related morbidity and mortality. The Infectious Diseases Section of The Transplantation Society strongly recommends both universal prophylaxis and pre-emptive strategies as viable

approaches for the prevention of CMV disease [3] and the CMV pp65 antigenemia test is a semiquantitative test that is useful for the diagnosis of clinical disease initiating pre-emptive therapy and monitoring response to therapy. Antiviral prophylaxis or pre-emptive therapy are similarly effective in preventing CMV disease in modest-risk CMV-seropositive liver transplant recipients, whereas antiviral prophylaxis is the preferred strategy over pre-emptive therapy for the prevention of CMV disease in high-risk recipients (CMV D+/R-). However, antiviral prophylaxis only delays the onset of CMV disease in many CMV D+/R- liver transplant recipients, and such occurrence of late-onset CMV disease is significantly associated with increased all-cause and infection-related mortality after LT [4]. In our department, prophylaxis for CMV is not performed because we want to avoid the adverse effects of prophylactic drugs which require long-term administration for pediatric patients and the pathogenesis of late-onset CMV disease. Furthermore, we believe it is somewhat difficult to diagnose late-onset CMV disease because of the difficulty of anticipating the pathogenesis and distinguishing it from other complications because of its diverse and nonspecific symptoms.

Our strategy for CMV infection, monitoring by CMV antigenemia as pre-emptive therapy, seems to have been effective and reasonable because we could obtain a complete cure of CMV infection and disease in all patients and no recipients died due to CMV disease. Saitoh et al [5] also reported a universal pre-emptive therapy for CMV infection with monitoring using CMV antigenemia after pediatric LDLT that reduced the use of antiviral agents and controlled CMV infection and disease. Further, pre-emptive therapy has the major advantages of limiting the periods of antiviral treatment in children for whom antivirals are necessary to prevent CMV disease and of avoiding excessive drug toxicities.

Risk factors for recurrence of CMV infection include primary CMV infection, deceased donor transplantation, high initial viral load, slow reduction in viral load on treatment, persistent viremia when transferred to secondary prophylaxis, multiorgan disease, and treatment for rejection during CMV disease treatment [3]. Furthermore, CMV D+/R- transplantation and the intensity of immunosuppressive therapy are also considered risk factors [6]. In our study, CMV D+/R- pediatric LDLT and OKT3 administration for acute rejection are considered independent predictors of high risk for CMV infection by multivariable analysis. The murine monoclonal anti-T-lymphocyte antibody OKT3 has proved to be highly effective in the salvage of steroid-resistant acute rejection of liver transplants [7]. However, the use of OKT3 in liver transplant recipients has recently been associated with an increased frequency of viral infection and our data confirmed this. Furthermore, two patients with OKT3 administration whose donors did not have CMV antibody did not show any pp65-positive cells after the LDLT in this study. Therefore, although the odds ratio was higher in OKT3 administration than in CMV D+/R- in our multivariable analysis, CMV D+/R- might be a more dominant factor for CMV infection after pediatric LDLT.

In addition, CMV D+/R- recipients might be more susceptible to CMV disease compared to CMV D+/R+ recipients after pediatric LDLT. Although OKT3 has now been removed from the market, T-cell receptor antibodies have played a role as effective medicine for steroid-resistant acute rejection. Our knowledge of the impact of OKT3 on CMV infection might be also useful when new kinds of such drugs become available.

Valganciclovir and intravenous ganciclovir were both recommended in previous guidelines [8] for the treatment of non-severe CMV disease based on data from the VICTOR trial. However, ganciclovir resistance occurs mainly in the D+/R- subset where the usual incidence of resistance after viremia is 5% to 12% and is higher in lung transplant recipients [3]. Switching to foscarnet is recommended if a mutation confers higher-level ganciclovir resistance, or UL97 and UL54 mutations combine to confer high-level ganciclovir resistance. In this study, foscarnet sodium hydrate was very effective for patients with ganciclovir-resistant CMV infection and all patients with foscarnet administration experienced a decrease in pp65-positive cells by approximately 1 week after administration.

There are a few limitations to this study. We have used a cutoff for positive CMV antigenemia of less than 3/50,000 cells, but this is not the standardized value. Further study is necessary to evaluate an adequate cutoff value of CMV antigenemia for pre-emptive therapy for CMV infection after pediatric LDLT.

In conclusion, in CMV infection after pediatric LT, cases with CMV antibody-positive donors and with

OKT3 administration for acute rejection are considered high risk and cases with CMV antibody-negative donors are considered low risk.

REFERENCES

- [1] Krampe K, Briem-Richter A, Fischer L, et al. The value of immunoprophylaxis for cytomegalovirus infection with intravenous immunoglobulin in pediatric liver transplant recipients receiving a low-dose immunosuppressive regimen. *Pediatr Transplant* 2010;14:67.
- [2] Gane E, Saliba F, Valdecasas GJ, et al. Randomised trial of efficacy and safety of oral ganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease in liver-transplant recipients. The Oral Ganciclovir International Transplantation Study Group [corrected]. *Lancet* 1997;350:1729.
- [3] Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation* 2013;96:333.
- [4] Bruminhent J, Razonable RR. Management of cytomegalovirus infection and disease in liver transplant recipients. *World J Hepatol* 2014;27(6):370.
- [5] Saitoh A, Sakamoto S, Fukuda A, et al. A universal preemptive therapy for cytomegalovirus infections in children after live-donor liver transplantation. *Transplantation* 2011;92:930.
- [6] Lautenschlager I. CMV infection, diagnosis and antiviral strategies after liver transplantation. *Transpl Int* 2009;22:1031.
- [7] Bowman JS, Green M, Scantlebury VP, et al. OKT3 and viral disease in pediatric liver transplant recipients. *Clin Transplant* 1991;5:294.
- [8] Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89:779.

トランスレーショナルリサーチの重要性

長村 文孝

東京大学医科学研究所先端医療研究センター先端医療開発推進分野教授

Key words アカデミア発 橋渡し研究加速ネットワークプログラム NIH基礎研究 開発型

医薬品開発の動向

2004年に米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration; FDA) は “Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products” を発出した。この中で、図1に示すように医薬品開発への投資額は製薬企業および政府の開発機関である米国立衛生研究所 (National Institute of Health; NIH) とともに年々増加しているにもかかわらず、図2に示すようにFDAで承認申請が受理される (承認ではない) 数が医薬品・生物製剤ともに減少していた。先の白書はこれに対して非常な危機感を示し、規制当局の側から開発を促進する対応策を打ち出していく意図が込められていた。

一方、このころより、製薬業界では「2010年問題」への対応が大きな問題となっていた。これは、売り上げの上位に位置する医薬品の多くが特許切れを迎えるが、それにとって

代わる大型の新薬開発が進んでいないため、経営上大きな危機を迎えるというものであった。表1は2002年と2012年の医薬品の世界売り上げトップ10を示したものである。2002年は、2位に赤血球造血刺激因子でバイオ製剤であるエリスロポエチン製剤が入っているが、その他は化合物の薬物作用を探索するスクリーニング等により開発された医薬品であった。また、その多くは「2010年問題」に含まれる特許切れを迎えていた。2012年になるとトップ10の医薬品は全て入れ替わっているが、特に注目する点として、6品目が特定の作用機序に関与する分子をターゲットとした分子標的療法薬であり、そのうち5品目が抗体であったことが挙げられる。ヒュミラ®とレミケード®の作用機序は関節リウマチ等の原因であるTNF α の過剰生産に対して抗体でTNF α を阻害することであり、エンブレル®はTNFが結合する受容体とヒト免疫グロブリンのFc部分から構成されており、TNF

が細胞表面の受容体と結合することを阻害する。リツキサン®はB細胞性リンパ腫ではリンパ腫細胞表面にCD20が発現していること、ハーセプチン®は乳がん等でHER2が過剰発現している場合が多いことに注目し、悪性細胞で発現している分子に抗体が結合し障害を与えることが作用機序である。固形がんでは血管新生による腫瘍の増殖が認められるが、アバスタチン®は血管新生を促進する分子であるVEGFの作用を阻止する抗体として開発された。いずれも基礎研究での発見に注目し、医薬品として抗体あるいは受容体制剤として開発されている。

トランスレーショナルリサーチ (Translational Research; TR) は、基礎研究の成果を初期臨床試験の段階まで臨床応用することが1つの定義である。抗体薬や受容体薬の開発は基礎研究の成果を基になされており、TRの代表といえる。新たな医薬品開発の方策としてTRは重要視されるようになり、各国の医薬品開発

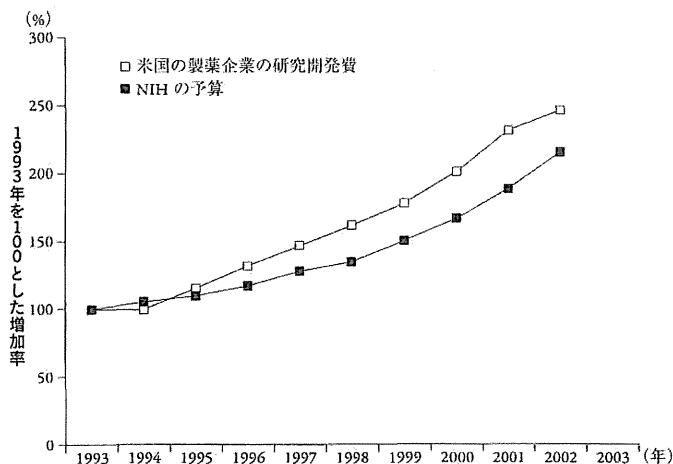


図1 米国における製薬企業の開発費と NIH 予算の増加状況

出所: FDA: Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products. 2004

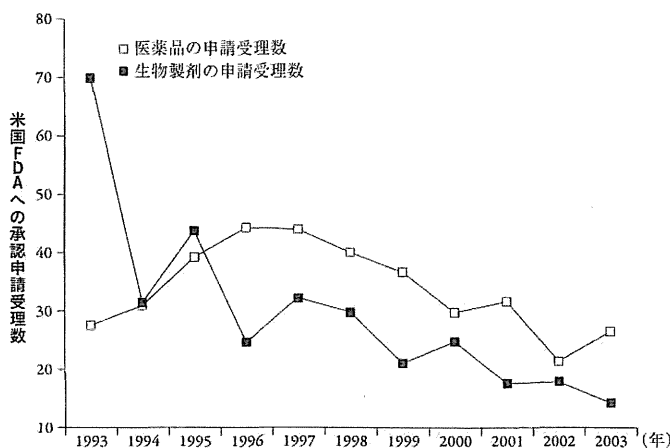


図2 米国FDAでの医薬品・生物製剤の承認申請受理数

出所: FDA: Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products. 2004

競争の大きな柱に成長している。本稿では、このように大きな役割を果たすようになったTRの意義と今後の課題について述べる。

基礎研究と臨床をつなぐトランスレーショナルリサーチの意義

TRは、欧米では“From bench to bedside”とも呼ばれ、日本でも基礎研究と臨床をつなぐ「橋渡し研究」とも呼ばれる。従来の医薬品開発では、有効性分を含んでいそうな材料の探索、そこからの化合物の収集、そして新規化合物の薬効を見極めるスクリーニングを経て候補物を選択することが主流であった。一方、近年ではヒトゲノム解析計画により人間の設計図とも呼べる全ゲノム配列が明らかとなり、また、疾患の発症機序や病態の特徴に関するメカニズムが分子生物学的に急速に明らかとなってきている。このような知見を基にして治療手段を考案し、臨床開発を進めるのがTRである。そのため、開発のアプローチは抗体に留まらず、核酸医薬、再生・細胞療法、

表1 医薬品世界売り上げランキング

順位	2002年			2012年		
	商品名	薬効	売上	商品名	薬効	売上
1	リビトール	高脂血症薬	8,507	ヒュミラ	TNFα 抗体	9,603
2	エボジェン/プロクリット/エスポー	エリスロポエチン	6,675	レミケード	TNFα 抗体	9,071
3	ゾコール/リポバス	高脂血症薬	5,580	エンブレル	TNF 受容体	8,476
4	タケプロン/プレバシッド	抗潰瘍薬	4,695	アドエア/セレタイド	吸入喘息薬	8,216
5	プリロセック/オメプラール	抗潰瘍薬	4,687	クレストール	高脂血症薬	7,430
6	ノルバスク/アムロジン	降圧薬/Ca拮抗薬	4,174	リツキサン	抗CD20抗体	7,227
7	メバロチン/プラバコール	高脂血症薬	3,755	ランタス	インスリン製剤	6,555
8	ジプレキサ	統合失調症薬	3,689	ハーセプチン	抗HER2抗体	6,444
9	パキシル/セロクサット	抗うつ薬 (SSRI)	3,297	アバスタチン	抗VEGF抗体	6,307
10	セレブレックス	抗炎症薬 (Cox2阻害)	3,150	ジャヌビア	糖尿病薬	6,208

売上は単位百万ドル。● は分子標的薬を示す。
出所: セジテム・ストラテジックデータ (株) ユート・ブレン事業部

遺伝子治療等多岐にわたる。また、化合物の選択も、鍵となる重要な分子に作用する候補分子としてスクリーニングを行ったり、立体構造と親和性から候補物質のスクリーニングを行ったりするなど変化している。

1. 基礎研究を担うアカデミア

TRの基となる基礎研究の主体は、実際には大学等のアカデミアである。製薬企業側からも「産業側は自社シーズ主体に創薬研究を行い製品を作り出すといういわゆる『自前主義』のビジネスモデルは既に断念し、オープンイノベーションの旗印の

表2 米国FDAで承認された医薬品の発明元(1998年から2007年)

	製薬企業	バイオベンチャー	アカデミア
全医薬品(252品目)	58%	18%	24%
優先審査*(123品目)	46%	23%	30%
科学的新規性の高い医薬品(118品目)	44%	25%	31%

*priority review: 既存の治療に対して大きな優越性を示す場合か、十分な治療法のない疾患あるいは進行度に対する薬剤が指定される。通常は10か月以内の審査期間が6か月以内に短縮される。

出所:文献2)より

下、アカデミアを含め広く外部に創薬シーズを求めべく産学連携を進めている」とされている¹⁾。1998年から2007年に米国FDAで承認申請が受理された医薬品252品目の開発元を特許の帰属先から解析した研究では、表2に示すように申請が受理された医薬品、優先審査に指定された医薬品、科学的に新規性が高い医薬品で分類してみると、ベンチャー企業発医薬品では18%、23%、25%、アカデミア発では24%、30%、31%であり、医療上必要性あるいは科学的新規性の高い医薬品でベンチャー企業発とアカデミア発が増えている²⁾。ただし、ベンチャー企業発の医薬品の元々の開発主体はアカデミアであったことが多く、実際にはアカデミアの研究に基づく医薬品がこの数値よりも多いことが推測される。また、この論文での承認申請は2007年までであり、その後アカデミアでの基礎研究が基となっている医薬品の候補は増えていると推定され、アカデミアの基礎研究が医薬品開発の大きな柱と言える。また、表1の分子標的薬6剤のうち、5剤がベンチャー企業で開発され、大手製薬企業に特許権が譲渡されたか、あるいはベンチャー企業が買収されて市販化されたという事実もある。また、収益の面からも、分子標的薬、特に抗体は薬価が非常に高いこともあ

り、表1に示されるように売上額も高くなり製薬企業にとっては大きな収益の柱となっている。

このように、医薬品開発は従来型が低分子化合物を中心とし患者数が多い疾患を対象とした自社開発から、アカデミアが開発主体でアンメット・メディカル・ニーズを対象としたTRに移ってきている。それゆえ、市場規模も大きく何より健康に直結した医薬品開発の国際競争においてTRの促進は国家的課題となってきた。

2. 臨床からの橋渡し事例

一方、新たな医薬品開発だけではなく、ある医薬品の有効性および副作用について個人差が生じる原因の追究は長年の課題であった。これについては、多くの臨床情報、すなわち患者のゲノム情報あるいは悪性腫瘍であれば腫瘍細胞の遺伝子変異を基にした研究が精力的に行われてきた。

患者側の遺伝子多型の差が臨床に用いられている代表例としては、抗がん剤のイリノテカンではUGT1A1の遺伝子多型が代謝に影響し副作用に関連していること³⁾、C型肝炎ウイルス感染者でのペグインターフェロンとリバビリンの併用療法でインターフェロンの関連遺伝子であるIL28B遺伝子のSNP(遺伝子多型)が

有効性に関連していることが判明し、前者は保険適用となり添付文書にも記載され、後者は先進医療として認められている⁴⁾。腫瘍細胞の例としては、セツキシマブでは血管新生に関連するEGFR陽性が適応であるが、KRASに変異が存在すると有効性を認めないことが明らかとなっている⁵⁾。

このような研究には多くの患者の情報に基づき、ゲノム解析というバイオロジー、すなわち基礎研究に立ち返って初めてなされることができ、このような研究を特にがんの領域ではTRに含めたり、あるいは「バックTR」「リバースTR」と呼ばれることもある。単に基礎から臨床への一方通行ではなく、パーソナライズド・メディシン(個別医療)実現のための双方向性と捉えられており治験段階からの検討と合わせ積極的に推進されている。

トランスレーショナルリサーチの状況と課題

1. 知的財産の扱い

日本で産学の連携が促進されるようになったのは1990年代後半に入ってからである。そのため、特許権確保の意識が研究者の間では希薄であった。このような産業界との連携が不十分であったこと、あるいは特許権を取得しなかったことから、日本のアカデミアで発見したことが日本国内ではなく海外企業によって医薬品開発に結びついた例は多い。

最近では特許出願後に論文発表で公表することが一般的になりつつあるが、研究者に対する知財に関する教育機会の不足もあり十分に浸透しているとは言い難い。また、関連特

許まで取得する「強い特許」となるための特許戦略や出願における権利範囲は科学的論理とは異なるため弁理士の能力に依存するが、バイオに精通した弁理士はまだ少ない。アカデミアにおいて特許を管理する部署も十分に機能していないケースもあるため、製薬企業からすると開発には不十分であると判断されるケースも多い。

最近、ALK融合遺伝子を有する非小細胞性肺癌に対するクリゾチニブは、その有効性ととも標的分子の論文発表から承認まで約4年という開発期間の短さが注目を集めた。これは論文に注目した海外企業が早期に治験を開始し承認に至った例である。一方、国内での産学間での連携強化と迅速な開発が、海外との開発競争において未だ十分ではない警鐘ともいえる。

2. 開発にかかるコストと人材不足

先に述べたように、TRの特徴の1つは低分子化合物だけではなく、多くの新しい概念の治療方法が存在することである。企業側からすると新たな製造設備の建設等のコスト、非臨床試験ならびに臨床試験での評価方法・実施方法等未知の領域が多いという理由から、開発に躊躇するケースが多い。また、前述したように特許権が不十分であり他者との競合に耐えられそうにないと判断されることがある。そのため、開発に関心を示す企業が現れないことが多い。その場合、開発するに十分な知財権があれば、医師主導治験を含む臨床試験を研究者が実施し、有効性・安全性に関するデータを取得して再度企業にアプローチすることができる。

このように自ら開発を主体的に行う場合には、表3にまとめた、シーズ（研究開発する対象）としての初期の臨床試験の段階までにわたって多くの事項を行う必要がある。これは製薬企業の果たしている資金確保、各種専門家の確保、プロジェクトマネジメントを含む開発戦略の策定等の役割を研究者が行う必要があることを意味する。被験物確保の点からは、近年、再生医療あるいは免疫担当細胞を用いたがん免疫療法開発が盛んであるが、多くの場合、患者由来細胞を原料としており、ヒトに投与することのできる品質を確保できる細胞調製施設（Cell Processing Center；CPCあるいはCell Processing Facility；CPF）をアカデミアで保有・運営する必要がある。このような施設は建設、維持に多額の費用が必要であり、ヒトに投与するに足る品質を有する被験物の製造と管理をアカデミアが担う必要があることもTRの実施が困難であった一因であった。生物統計家、データ解析、プロジェクトマネジメント等の専門家の不足は海外と比して著しく、養成が急務となっている。

「日本版NIH構想」への期待

このような開発環境を研究者個人で整えるのは困難であり、日本のアカデミアとしても組織として整える必要があった。そこで、文部科学省では、TRの支援の拠点形成のために平成19（2007）年度に橋渡し研究支援プログラムを開始し、次いで平成24（2012）年度からの橋渡し研究加速ネットワークプログラムでは開始時に全国で7拠点を選定してい

表3 開発型トランスレーショナルリサーチで考慮する事項

基礎研究段階
<ul style="list-style-type: none"> 動物実験を含めた研究倫理 知的財産確保と強化 研究資金の確保
非臨床試験段階
<ul style="list-style-type: none"> 治験申請に必要な非臨床試験のデザインと実施 Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準）遵守が必要な非臨床試験の選定と委託 適切な動物実験施設 被験物製造（細胞調製施設等） 規制対応
臨床試験段階
<ul style="list-style-type: none"> 製造設備の維持・管理（細胞調製施設等） Good Manufacturing Practice（医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準）準拠被験物の委託製造あるいは製造 特殊検査の対応 標準業務手順書の作成・文書管理 実施計画書・説明同意文書等の作成 データマネジメント モニタリング・監査等の質の保証業務 補償・賠償への対応 規制対応
全段階を通じて
<ul style="list-style-type: none"> 研究、非臨床試験、臨床試験実施に必要な費用の確保 利益相反管理 連携・導出企業の選定 プロジェクトマネジメント

る⁶⁾。このプログラムでは、拠点外のアカデミアも含めたシーズの知財獲得から医師主導治験の実施までを支援することのできる支援体制を構築するために、専門的に業務を遂行できる人材の養成・確保、教育体制の整備、細胞調製施設を含めた施設整備等が求められている。このプログラムにより拠点整備は進行しているが、いわゆる「日本版NIH構想」において、厚生労働省の早期・探索的臨床試験拠点整備事業および臨床研究中核病院整備事業が平成27（2015）年度に一体運用される計画となっており、省庁の垣根を越えた支援が期待されている。また、橋渡

し研究加速ネットワークプログラムの予算は、平成25(2013)年度が約30億円で平成26(2014)年度は約65億円と異例ともいえる増額となり、国の期待も高まっている。

米国ではNIHは世界最大の基礎研究所というだけでなく、研究所病院を有するTR開発施設であり、また、研究費の配分あるいは医療開発の実務支援を一元的に行う国策としての医薬品開発の事実上の司令塔となっている。NIHが臨床研究に費やす予算は年間約300億ドルであり、約80%が競争的資金として分配され、約10%がNIHの施設に分配されている⁷⁾。NIHのアカデミアのTR拠点への支援としては、National Center for Advancing Translational Sciencesを創設し、Clinical and Translational Science Awards (CTSA)を設け

ていることが挙げられる。CTSAでは米国の62の施設が拠点として選定され、総額4.6億ドルが各センターに配分され、各センターには年間約400万ドルから約2,300万ドルが支出されている⁸⁾。その他、NIHは、低分子化合物や抗体の治験用製造施設を関連企業として有しており、また、他のアカデミア向けに細胞調製を行う拠点の指定による治験での被験物提供体制を整えており、TRの問題の1つである被験物の確保を容易にしている。また、NIH発のシーズの開発やライセンスアウト、NIHから研究費を配分された試験の実施に必要な資料整備等の支援を行っており、治験実施施設支援の役割も果たしている。

日本においても急速にTR推進のための環境が整備されつつある。しかし米国と比するとその規模と体制

においてまだ格段の差が存在する。医薬品開発の大きな柱であるTRを国際競争力のあるものにするためには「日本版NIH構想」のもと戦略的かつ継続的な支援が必要である。

文献

- 1) Inagaki O: Expectation for the Drug Development Activity in Academia. YAKUGAKU ZASSHI 133 (2): 213-219, 2013
- 2) Kneller R: The importance of new companies for drug discovery: origins of a decade of new drugs. Nat Rev Drug Discov 9: 867-882, 2010
- 3) カンプト添付文書
- 4) <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/isei/sensiniryoku/kitan02.html>
- 5) アービタックス添付文書
- 6) <http://www.tr.mext.go.jp/>
- 7) <http://www.nih.gov/about/budget.htm>
- 8) <http://www.ncats.nih.gov/research/cts/ctsa/ctsa.html>

ながむら ふみたか
〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
nagamura@ims.u-tokyo.ac.jp

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

電子辞書DF-X11001 PASORAMA+

●電子辞書 2014年
価格:本体76,000円+税
[JAN4950096164505]

SIIの電子辞書「DAYFILER」シリーズの医学モデル。パソコンで電子辞書が引けるPASORAMA+、タッチ操作が可能なWVGA・静電式カラータッチパネル液晶、無線LANなどの機能に、ショートカットキー設定機能を加え、単語帳機能・検索履歴機能の容量もアップグレード。収録コンテンツは「医学書院 医学大辞典」「ステッドマン医学大辞典」「治療薬マニュアル」などの医学系はもちろん、国語系、英語系も充実。

