

学位論文題名

A new immunosuppressant, FTY720,
in canine kidney transplantation :
effect of single-drug, induction and combination treatments

(イヌ腎移植モデルにおける FTY720の単独、
インダクションおよび併用治療効果)

学位論文内容の要旨

1. 研究目的

FTY720(FTY)は末梢血中のTリンパ球を長期間選択的に減少させる特性を有した新規免疫抑制剤であり、この作用機序はリンパ球におけるアポトーシスの誘導あるいはリンパ節やパイエル板へのリンパ球ホーミングの促進によるものであるとされている。本実験は、イヌ腎移植モデルを用いてFTYの免疫抑制効果、作用機序、薬物動態ならびに毒性について検討した。

2. 方法

雑種成犬(体重 11-13kg)をドナーとし雌性ビーグル成犬(体重 9-11kg)をレシピエントとした。実験群はコントロールを非治療群とし、FTY 単独治療群を投与量より0.05,0.1,1,5,10mg/kg の5群とした。インダクション治療群は、FTYの投与量を5mg/kgとし術前3日間、術日と術後2日目までの3日間、術後3日目からの3日間、術日のみ投与の4群とした。併用治療群は非有効投与量の cyclosporine A(CsA) 5mg/kg と tacrolimus (FK) 0.5mg/kg の単独治療群に0.1と5mg/kgのFTYをそれぞれ併用投与させた6群とした。インダクション治療群を除く全ての治療群は免疫抑制剤を手術翌日より90日間連日経口投与した。生存日数ならびに血液生化学検査(クレアチニン:Cre, BUN, AST, ALT, LDH, 総ビリルビン, 血糖), 術後の末梢血中白血球およびリンパ球数の変化を解析した。各免疫抑制剤の経時的な血中濃度と剖検時に採取した腎グラフト, 腸間膜リンパ節, 脾臓, 胸腺におけるFTYの組織内濃度を測定した。病理組織学的検索として腎グラフトにおける拒絶反応抑制効果の評価およびそれ以外の各種臓器の病理学的異常に関して検討した。また、リンパ組織におけるアポトーシス細胞の程度評価をTUNEL染色法にて行った。

3. 結果

非治療群における中間生存日数は12日であった。全てのFTY単独治療群は非治療群に比べてわずかではあるが有意な生存日数の延長を認めた。投与量0.1mg/kgのFTY単独投与群の中間生存日数が22.5日と最も長かったが、容量依存効果は認めなかった。インダクション治療群は術後3日目からの投与群を除く全ての群で単独治療群と同程度の生存日数の延長を認めた。CsA単独治療群の中間生存日数は22日であった。CsAとの併用治療群の中間生存日数はFTY投与量0.1mg/kgで25.5日, 5mg/kgで27日

と明らかな生存日数の延長は認められなかった。一方、FK 単独治療の中間生存日数は 29 日であり、FK との併用治療群は投与量 0.1mg/kg で 49.5 日、投与量 5mg/kg で 50 日と併用治療効果を認めた。

生化学検査において、術後 Cre の変動は非治療群において術後 10 日目で 10mg/dl を超え、単独治療群では Cre の上昇は非治療群より数日遅れるが、グラフトは全て 10mg/dl を超える腎不全を呈し、インダクション治療群も同様であった。CsA との併用療法群における最終 Cre は 10mg/dl 近くまで上昇したが、FK との併用治療群では平均 Cre は観察期間中 5mg/dl 以下であった。BUN と Cre 以外の生化学検査値は全ての実験群において異常値を認めなかった。

血液学的検査において非治療群、CsA または FK 単独治療群はリンパ球数の変動は認めなかったが FTY 治療群は著しいリンパ球の減少を認め、治療後 3 日目に術前値の 30% 以下の値を示し観察期間中低値を維持した。

FTY 血中濃度は容量依存的に増加し、CsA または FK との併用投与においてそれぞれの薬物濃度に影響を及ぼさなかった。同投与量の FTY 血中濃度と比べて FTY 組織内濃度は 100 倍以上であり、特に脾臓において高かった。

病理組織学検索において非治療群の全グラフトで Severe rejection を認め、単剤治療群またはインダクション治療群においても同様であった。CsA との併用治療群では moderate から severe rejection の所見を認め、FK との併用治療群では moderate rejection のみであった。全ての FTY 治療群は軽度の macrophage の肺胞内浸潤と、回腸のパイエル板におけるリンパ濾胞の増大を認めた。TUNEL 染色法におけるアポトーシス細胞はどのリンパ組織においても非治療群、治療群ともに散在的に認めるのみであった。

4. 考察

FTY 単独治療の効果は強くなかったが、周術期のインダクション治療により単独治療群と同等の免疫抑制効果を認め、術日 1 日間投与のみでも拒絶反応抑制を認めた。これは FTY の速やかな反応とその効果が長期に持続することを示している。FTY は多種にわたる動物の実験モデルで他剤との併用効果を認めているが、今回の実験では CsA とは認められず、FK との併用において免疫抑制効果の増強を認めた。しかし、FTY 0.1mg/kg と 5mg/kg の併用治療における容量依存効果は単独治療と同様に認めなかった。これらの結果は、臨床応用を考慮した場合、十分な末梢血リンパ球の減少が認められれば FTY の投与量を増やすことに意味がないことを示しており、言い換えれば FTY は非常に安全域の広い免疫抑制剤であるとも言える。FTY 0.05 mg/kg の投与量で、既にパイエル板のリンパ濾胞の増大を伴う末梢血中リンパ球数の著しい減少が認められている。また、治療群におけるリンパ節組織のアポトーシス細胞は非治療群と比べて増加していないことなどから、FTY の主な薬物作用機序はリンパ球ホーミングであることを強く示唆した。FTY 血中濃度は全ての群において投与量と相関したが、経時的に上昇傾向を示した。これは FTY の組織蓄積性と長い半減期が原因であると考えられ、臨床応用の際には注意が必要であると考えられた。FTY 治療群における肺胞内への macrophage の浸潤を除いて、肝毒性、耐糖能異常、顆粒球減少、造血障害、感染症のエピソードは全投与群を通じて存在しなかった。総じて、臨床前および臨床試験において FTY は重篤な副作用を有していないとされており、本実験でも FTY の有効投与範囲内においては問題となる副作用は存在しなかった。FTY の作用機序は既知の免疫抑制剤とは全く異なるもので重篤な副作用は有しておらず、主要免疫抑制剤の拒絶反応抑制効果の増大と副作用を軽減する目的の併用剤として臨床での応用が十分期待できるものであると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 野々村 克 也
副 査 教 授 上 出 利 光
副 査 教 授 藤 堂 省

学 位 論 文 題 名

A new immunosuppressant, FTY720, in canine kidney transplantation : effect of single-drug, induction and combination treatments

(イヌ腎移植モデルにおける FTY720の単独,
インダクションおよび併用治療効果)

臓器移植における既存の免疫抑制剤のもつ感染症や臓器障害などの副作用は時に個体にとって重篤な合併症となる。これらの副作用を軽減する目的で作用機序の異なる免疫抑制剤による多剤併用療法が行われているがより安全で有効な免疫抑制剤の登場が待望されている。FTY720(FTY)は末梢血中の T リンパ球を長期間選択的に減少させる特性を有した新規免疫抑制剤であり、この作用機序はリンパ球におけるアポトーシスの誘導あるいはリンパ節やパイエル板へのリンパ球ホーミングの促進によるものであるとされている。本実験は、イヌ腎移植モデルを用いて FTY の免疫抑制効果、作用機序、薬物動態ならびに毒性について検討された。非治療群における中間生存日数は 12 日であった。全ての FTY 単独治療群は非治療群に比べてわずかではあるが有意な生存日数の延長を認めた。投与量 0.1mg/kg の FTY 単独投与群の中間生存日数が 22.5 日と最も長かったが、容量依存効果は認めなかった。インダクション治療群は術後 3 日目からの投与群を除く全ての群で単独治療群と同程度の生存日数の延長を認めた。サイクロスポリン単独治療群の中間生存日数は 22 日であった。サイクロスポリンとの併用治療群の中間生存日数は FTY 投与量 0.1mg/kg で 25.5 日、5mg/kg で 27 日と明らかな生存日数の延長は認められなかった。一方、FK 単独治療の中間生存日数は 29 日であり、FK との併用治療群は投与量 0.1mg/kg で 49.5 日、投与量 5mg/kg で 50 日と併用治療効果を認めた。生化学検査において、術後クレアチニンの変動は非治療群において術後 10 日目で 10mg/dl を超え、単独治療群ではクレアチニンの上昇は非治療群より数日遅れるが、グラフトは全て 10mg/dl を超える腎不全を呈し、インダクション治療群も同様であった。サイクロスポリンとの併用療法群における最終クレアチニンは 10mg/dl 近くまで上昇したが、FK との併用治療群では平均クレアチニンは観察期間中 5mg/dl 以下であった。血液尿素窒素とクレアチニン以外の生化学検査値は全ての実験群において異常値を認めな

かった。血液学的検査において非治療群、サイクロスポリンまたはタクロリムス単独治療群はリンパ球数の変動は認めなかったが FTY 治療群は著しいリンパ球の減少を認め、治療後 3 日目に術前値の 30% 以下の値を示し観察期間中低値を維持した。FTY 血中濃度は容量依存的に増加し、サイクロスポリンまたはタクロリムスとの併用投与においてそれぞれの薬物濃度に影響を及ぼさなかった。同投与量の FTY 血中濃度と比べて FTY 組織内濃度は 100 倍以上であり、特に脾臓において高かった。病理組織学検索において非治療群の全グラフで Severe rejection を認め、単剤治療群またはインダクション治療群においても同様であった。サイクロスポリンとの併用治療群では moderate から severe rejection の所見を認め、タクロリムスとの併用治療群では moderate rejection のみであった。全ての FTY 治療群は軽度の macrophage の肺胞内浸潤と、回腸のパイエル板におけるリンパ濾胞の増大を認めた。TUNEL 染色法におけるアポトーシス細胞はどのリンパ組織においても非治療群、治療群ともに散在的に認めるのみであった。以上より、FTY は広い安全域を有し、主要免疫抑制剤の拒絶反応抑制効果の増大と副作用を軽減する目的の adjuvant drug として臨床での応用が十分期待できるものであると結論づけた。

公開發表後、副査の上出教授より 1) 容量依存効果を認めなかった理由 2) リンパ球減少の程度と治療効果との関係 3) サイクロスポリンとタクロリムスのそれぞれの併用治療群における治療効果の違い 4) 実験動物の臨床所見についての質問があった。それらに対し、1) 実験データより FTY 投与量 0.1mg/kg 以下の投与量において容量依存効果が存在するであろう可能性があること 2) リンパ球減少は投与量において差を認めず治療効果との相関は得られなかったこと 3) 過去におこなったイヌ肝移植での成績を示し移植臓器の違いが原因の一つであること 4) FTY を投与された動物の臨床所見に異常は認めなかったこととの回答があった。主査の野々村教授より 1) 他の免疫抑制剤と比較して FTY720 の優れている点 2) 実際の臨床応用での使われ方 3) 小腸移植での効果についての質問に対して 1) 単独での免疫抑制効果は強くないが併用効果が期待でき安全性が高いこと 2) 術後早期に他剤と併用することによって免疫抑制剤の量を減らせること 3) 小腸移植の拒絶反応の場とリンパ球ホーミングの場が異なるため小腸移植での免疫抑制効果も期待できるとの回答を得た。最後に副査の藤堂教授から 1) FTY の作用機序についての質問があった。これに対して、リンパ球アポトーシスとホーミングの 2 つの説が当初存在したこと。そして、現在ではホーミングが主要メカニズムであり、sphingosine kinase によってリン酸化を受けた FTY が sphingosine 1-phosphate 受容体を介してリンパ球ホーミングを生じること。更に、人での徐脈の原因がこれに起因するとの回答がなされた。また、副査の藤堂教授からはタクロリムスの毒性、FTY720 の小腸移植での効果についての追加コメントを頂いた。当該研究より得られた結果は、FTY720 の臨床応用に際して極めて有益な情報をもたらすものであると判断し、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。