小児ネフローゼ症候群患者に対する遺伝子組換え人血清アルブミン製剤の使用経験

敦賀 和志・八代 知美・沖 栄真・田中 完

(受付日:平成21年7月30日 採用日:平成21年8月20日)

要 旨

【はじめに】遺伝子組換え人血清アルブミン (rHSA) 製剤はピキア酵母を宿主とした組換え型人血清アルブミン製剤である。成人肝硬変症やネフローゼ症候群 (NS) 患者への投与報告は散見されるが、小児患者への投与報告は未だない。今回われわれは、小児 NS に伴う浮腫に対し rHSA を投与し、主にその安全性を中心に検討した。

【対象, 方法】2008年9月から2009年1月まで NS にて当院で入院加療され、浮腫、尿量低下、循環不全をきたし、利尿剤のみでは症状の改善が得られない状態の患者で同意が得られた6例 (4~17歳)、延べ8例を対象とした。原疾患は、微小変化型3例、巣状糸球体硬化症2例、紫斑病性腎炎1例であり、当施設倫理委員会の承認後に本剤の投与を開始した。投与方法は一定ではなく個々人の臨床状態により調整したことから、1日投与量は4~37.5g、投与期間は3~22日であった。

【結果】本剤投与前の血清抗ピキア酵母 IgE 抗体はすべての症例で陰性であった。また、rHSA 投与後1~4ヵ月での抗体が陽性化した者も認められず、繰り返し投与によるアレルギー反応はみられなかった。いずれの症例も浮腫の改善、尿量の増加、循環動態の安定が得られ、血清アルブミン値も改善が認められた。

【まとめ】今回のわれわれの検討からは、rHSA 製剤は小児 NS 患者の浮腫に対し安全に投与が可能であり、従来の献血由来アルブミン製剤 (nHSA) の近い将来の代替え療法としての可能性も示唆された。今後多数の症例で長期間の検討が必要である。

序 言

ネフローゼ症候群 (NS) は蛋白尿、低蛋白血症、浮腫、高脂血症を呈する疾患である。浮腫改善のためにループ利尿薬が用いられることが多いが、重度の低アルブミン血症の場合、利尿剤に対し反応性に乏しいことを経験する。このような症例は重度の浮腫を呈し、胸水や腹水を認めることが多く、異論はあるものの一般臨床では利尿剤に加えアルブミン製剤が用いられる。ヒト献血由来アルブミン製剤 (nHSA) は、人血液を原料とするためにプリオンや未知のウイルスといった感染性物質による安全性のリスクが常に付きまとう¹⁾。一方、遺伝子組換え人血清アルブミン製剤 (rHSA) の構造は nHSA 製剤と同等であり、その製造過程において動物由来製剤を用いておらず、感染性物質混入のおそれがない²⁾。臨床応用としては、成人の肝硬変症に対して重度の副作用がなく投与できたとする報告があり^{3,4)}、わが国では肝硬変症、NS、熱傷、出血性ショックに対し保険適応がなされている。

これまで成人肝硬変や少数のネフローゼ症候群患者を対象とした rHSA 製剤の投与報告は散見されるものの²⁾、小児患者を対象とした投与報告はなされていない。今回、当施設での小児ネフローゼ症候群患者に対する rHSA の使用経験を概説する⁵⁾。

弘前大学医学部小児科
(〒036 8562 弘前市在府町5)

Use of recombinant human serum albumin in pediatric patients with nephrotic syndrome

Kazushi Tsuruga, Tomomi Yashiro, Eishin Oki, Hiroshi Tanaka

Department of Pediatrics, Hirosaki University School of Medicine

Key words: 遺伝子組換え人血清アルブミン製剤
ヒト献血由来アルブミン製剤
ピキア酵母
小児ネフローゼ症候群

対象・方法

2008年9月から2009年1月に当科入院のネフローゼ症候群患者で本人・家族の同意が得られた6例(6~17歳), 延べ8例(1例では異なる入院時に計3回の投与機会が得られた)。原疾患の内訳は, 微小変化型3例, 巣状糸球体硬化症2例, 紫斑病性腎炎1例。浮腫, 尿量低下, 循環不全をきたし, 利尿剤のみでは症状の改善が得られない状態。血清アルブミン濃度 3.0g/dl 以下を投与開始基準とし, 当施設倫理委員会の承認を得た上で投与を開始とした。

投与方法は, rHSA 25%製剤を1時間で点滴静脈内投与(1回最大1バイアル $12.5\text{g}:50\text{ml}$), 投与前には血清抗ピキア酵母IgE抗体陰性を確認した(陽性の場合は原則投与を避ける計画とした)。また, 実際の投与に当たっては重篤なアレルギー反応, アナフィラキシー反応に備え, 適切なモニタリング, 緊急処置・薬剤の準備を行った。本剤の有用性をみる臨床検討項目は, 投与前と投与後3日目の体重, 血清総蛋白濃度, 血清アルブミン血中濃度として投与前後で比較した。また, 投与前後3日間の平均1日尿量の比較も行った。今回の検討の主目的である安全性に関しては, 本剤投与に伴うアレルギー反応, アナフィラキシー症状等の有無, 血清抗ピキア酵母IgE抗体値の変化, 血中尿素窒素値(BUN)と血清クレアチニン値の変化を確認した⁵⁾。

結 果

ネフローゼ症候群を呈した6名, 8症例の内訳を表1に示した。対象は男子7例, 女子1例, 年齢平均は12.5歳(6~17歳), 投与期間は平均11日間(3~22日間)であった。投与量は1日最小で 4g ~最大で 37.5g となった。入院初日から本剤が投与されたために投与前の尿量測定ができなかったものでは, その項目のみ評価から除外した。今回の検討では, 症例数が少なく投与方法にもばらつきが大きいため, 有意差は得られなかったものの全症例において浮腫の改善, 尿量の増加, 体重の減少, 血清総蛋白とアルブミン値の改善が確認された(表2)。本剤へのアレルギー反応に関しては, 全例ですべての投与機会においてアレルギー反応等の副反応は認められず, 安全に投与することができた。すべての症例において血清抗ピキア酵母IgE抗体値を本剤投与後1~4ヵ月間にわたり経時に測定したが, 抗体の陽転化を示したものはなかった。腎機能検査に関しては, 症例5で初回の投与機会において投与前後でBUNが 19mg/dl から 26mg/dl へ, 血清クレアチニン値が 0.4mg/dl から 0.9

表1 rHSA製剤を投与した8症例の臨床DATA

case	sex	Age (years)	disease	Treatment period (Day)	rHSA (g/day)	UV (ml/day)	U-prot (g/day)		BW (kg)		TP (g/dl)		Alb (g/dl)		BUN (mg/dl)		Cre (mg/dl)	
							baseline	after	baseline	after	baseline	after	baseline	after	baseline	after	baseline	after
1	M	12	HSPN	5	4	1100	1350	6.5	5.8	39.2	4.8	5.1	2.8	3.0	15	18	0.6	0.5
2*	M	17	FSGS	18	12.5	1930	2190	7.6	6.9	54.1	4.4	4.3	2.0	2.4	17	18	0.6	0.6
3	M	8	MCNS	8	12.5	-	1590	10.0	7.3	32.3	4.6	4.6	2.1	2.6	8	10	0.3	0.3
4	M	6	FSGS	3	6.25	800	620	3.1	4.4	15.4	5.2	6.5	3.3	4.4	9	15	0.2	0.3
5*	M	17	FSGS	22	12.5~25	-	1570	17	19	54.5	4.8	4.0	2.6	2.1	19	24	0.4	0.7
6	M	14	MCNS	22	12.5~37.5	-	1980	21	28.7	60.8	3.9	3.4	1.6	1.7	9	10	0.5	0.6
7	F	9	MCNS	9	12.5	880	640	6.5	6.0	45.6	5.0	5.3	2.5	3.0	9	10	0.4	0.4
8*	M	17	FSGS	3	12.5	-	1600	10.6	11.3	55.2	4.7	5.4	2.4	3.0	21	23	0.6	0.7

*No. 2, 5, 8: the same patient

UV: urine volume, BW: body weight, TP: total protein, Alb: albumin, BUN: blood urea nitrogen, Cre: creatinine, HSPN: Henoch-Schönlein purpura nephritis, FSGS: focal segmental glomerulosclerosis, MCNS: minimal change nephrotic syndrome

表2 投与前後での各比較項目の検討

variable	base line	after	P-value
Urine volume (mℓ)	1561 ± 563 (800 ~ 2300)	1669 ± 660 (500 ~ 2600)	0.834
Urine protein (g/day)	10.3 ± 5.9 (3.1 ~ 21.0)	11.2 ± 8.5 (4.4 ~ 28.7)	0.497
Body weight (kg)	44.6 ± 15.1 (15.4 ~ 60.8)	43.1 ± 14.6 (14.3 ~ 57.7)	0.529
Total Protein (g/dℓ)	4.7 ± 0.4 (3.9 ~ 5.2)	4.8 ± 1.0 (3.4 ~ 6.5)	0.713
Albumin (g/dℓ)	2.4 ± 0.5 (1.6 ~ 3.3)	2.8 ± 0.8 (1.7 ~ 4.4)	0.316
BUN (mg/dℓ)	13.4 ± 5.2 (8 ~ 21)	16.0 ± 5.7 (10 ~ 24)	0.186
Creatinine (mg/dℓ)	0.45 ± 0.15 (0.2 ~ 0.6)	0.51 ± 0.16 (0.3 ~ 0.7)	0.420

mg/dℓ へ上昇が認められた。しかし、これらの変動はその後の経過観察中に速やかに正常化し、再投与の機会において異常変動は認められなかった⁵⁾。

考 察

NS における浮腫出現は、尿中へ大量のアルブミンを中心とする蛋白の漏出により低アルブミン血症となり、膠質浸透圧の低下によって血管外へ水分が漏出し間質へ貯留することが主要因となる。さらに循環血液量の減少により、レニン アンギオテンシン アルドステロン系が賦活化されナトリウムの再吸収が助長される。そのため体内へのナトリウム貯留により全身の浮腫、胸水、腹水貯留出現へつながってゆく。この際、ループ利尿剤が治療に用いられることが多いが、効果が不十分な場合、利尿剤に加えアルブミン製剤を補充することによって血管内容量を回復させ、循環動態を安定化させることが浮腫の軽減に有用とする報告もある⁶⁾。

現在、nHSA 製剤は肝硬変、NS、熱傷、ショック等の治療に広く用いられている。しかし、献血由来であるがゆえに未知のウイルスやプリオン等の感染症のリスクは避けることが出来ない。一方、rHSA 製剤はピキア酵母を宿主として作られ、動物由来の物質を一切用いておらず感染症のリスクがない。nHSA 製剤との構造上の同一性も確認されている⁷⁾⁻⁹⁾。製造に当たって宿主として用いられるピキア酵母は、味噌などの表面にも存在し、パン酵母である *Saccharomyces cerevisiae* と同様の出芽酵母であり、遺伝子組換え医薬品の宿主としての使用実績もある。米国での開発試験において、血清抗ピキア酵母 IgE 抗体陽性の健康人に試験薬を投与したところ、アレルギー性の重篤な副作用が認められたという報告がある。しかし、その後はアレルギー反応の誘発原性を低減化するための製造方法の変更が実施されており、日本国内での臨床試験においては、血清抗ピキア酵母 IgE 抗体

陽性者と陰性者の間には副作用の発現率の比較では有意差を認めなかったとされる。しかし、安全のために、製剤の投与前には全例に血清抗ピキア酵母 IgE 抗体検査を行う必要がある。陽性の場合には原則として投与は禁忌となる。抗体検査はコマーシャルベースでの測定も可能であり月 1 回の保険請求も可能となっている。また、イムノクロマト法による検査では約 40 分での結果判定が可能である。

われわれの使用経験では、今回検討した 6 人全員において本剤投与前の血清抗ピキア酵母 IgE 抗体は陰性であった。この内、1 例の巣状糸球体硬化症の患者は計 3 回の繰り返し投与を受けたがアレルギー反応はみられなかった。一方、検討症例以外の微小変化型 NS の 1 例で抗体が擬陽性であったため、rHSA 製剤の投与は行わず、従来からの nHSA 製剤を投与した症例があった。

結 論

rHSA は、小児 NS の患者に対し安全に投与でき、従来の nHSA の代替療法として施行可能であることが示唆された。他疾患に対しても rHSA は有効である可能性があるが、多数の症例を対象としたより長期間での検討が必要である。

「日本小児腎臓病学会の定める基準に基づく利益に関する開示事項はありません。」

文 献

- 1) Matejtschuk P, Dash C H, Gascoigne W: Production of human albumin solution: a continually developing colloid. Br J Anaesth 85: 887-895, 2000.
- 2) Kobayashi K: Summary of recombinant human serum albumin development. Biologicals 34: 55-59, 2006.
- 3) Kasahara A, Kita K, Tomita E, Toyota J, Imai Y, Kumada H: Repeated administration of recombinant human serum albumin caused no serious allergic reactions in patients with liver cirrhosis.

- sis : a multicenter clinical study. *J Gastroenterol* 43 : 464-472, 2008.
- 4) Ohnishi K, Kawaguchi A, Nakajima S, Mori H, Ueshima T : A comparative pharmacokinetic study of recombinant human serum albumin with plasma-derived human serum albumin in patients with liver cirrhosis. *J Clin Pharmacol* 48 : 203-208, 2008.
 - 5) Tsuruga K, Oki E, Yashiro T, Ito E, Tanaka H : Use of recombinant human serum albumin in pediatric patients with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* ; DOI 10.1007/s00467-009-1221-y, 2009.
 - 6) Dhamarji R, Hari P, Bagga A : Randomized cross-over trial comparing albumin and frusemide infusions in nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 24 : 775-782, 2009.
 - 7) Ohtani W, Nawa Y, Takeshima K, Kamuro H, Kobayashi K, Ohmura T : Physicochemical and immunochemical properties of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris*. *Anal Biochem* 256 : 56-62, 1998.
 - 8) Ikegaya K, Hirose M, Ohmura T, Nokihara K : Complete determination of disulfide forms of purified recombinant human serum albumin, secreted by the yeast *Pichia pastoris*. *Anal Chem* 69 : 1986-1991, 1997.
 - 9) Sugio S, Kashima A, Mochizuki S, Noda M, Kobayashi K : Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Eng* 12 : 439-446, 1999.

Use of recombinant human serum albumin
in pediatric patients with nephrotic syndrome

Department of Pediatrics, Hirosaki University School of Medicine

Kazushi Tsuruga, Tomomi Yashiro, Eishin Oki, Hiroshi Tanaka

Although recombinant human serum albumin (rHSA) has been recently developed from *Pichia pastoris* without using any animal-derived materials, its clinical use is yet limited especially in pediatric patients. We report our preliminary experience regarding the safety of rHSA in selected patients with nephrotic syndrome (NS). For the controlling refractory edema caused by NS, rHSA in combination with loop diuretics was administered to 6 NS patients, including one patient who received rHSA 3 times at every other month, from September 2008 to January 2009 in our hospital. One treatment course of rHSA was performed at least 3 consecutive days (3-22 days). Specific IgE antibody titers against *Pichia* yeast components measured before and after treatment remained negative all the study subjects. No allergic adverse events were observed. On the basis of changes in serum albumin level, urinary output, edema and body weight, the clinical usefulness seemed to be similar to that of conventional plasma-derived human serum albumin, as postulated in recent reports concerning the successful treatment of adult liver cirrhosis using rHSA. Our preliminary experience suggest that the safety and clinical usefulness of rHSA in the treatment of pediatric patients with NS. Further studies to confirm the long-term safety and clinical usefulness of rHSA in a large number of patients are, however, needed.

Key words : Recombinant human serum albumin, Native human serum albumin, *Pichia pastoris* , Pediatric patients, Nephrotic syndrome