Eculizumab の有効性を規定する遺伝子多型

西村純一*

Genetic polymorphism in C5 and poor response to eculizumab

Jun-ichi NISHIMURA

Key words: PNH, PIGA, complement mediated hemolysis, eculizumab, polymorphism

西村純一

昭和63年3月 川崎医科大学卒業
平成元年5月 大阪大学微生物病
研究所付属病院内科入局
平成6年3月 大阪大学大学院医学
研究科博士課程修了
平成7年7月 Research Associ-
ate, Duke University Medical
Center
平成9年5月 大阪大学微生物病研
究所免疫不全講師 (研究機関
研究員)
平成13年9月 Senior Research
Scientist, Duke University
Medical Center
平成14年5月 Assistant Research
Professor, Duke University
Medical Center
平成19年8月 大阪大学医学部血
液・腫瘍内科特任助教
平成21年5月 大阪大学医学部血
液・腫瘍内科助教
平成22年10月 大阪大学医学部
血液・腫瘍内科助教 (学部に
講師)

はじめに

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; PNH) における補体介在性溶血に対する治療薬として開発された、補体蛋白 C5 を標的とするヒト化モノクローナル抗体エクリズマブに対して、溶血の指標である血清 LDH 値が全く低下しない不応例が、日本人 PNH 患者の一部の集団に見いだされていたが、最近その分子的機序が解明されたので解説したい¹⁾。

1. 発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) の臨床病態

PNH は、造血幹細胞の *phosphatidylinositol glycan class A (PIGA)* 遺伝子に後天的変異が起こり、その変

異細胞がクローン性に拡大する造血幹細胞疾患である。PIGA 変異により glycosylphosphatidylinositol anchored proteins (GPI-AP) の合成障害をきたし、CD55 (decay-accelerating factor; DAF) や CD59 などの GPI アンカー型補体制御因子を欠損する PNH 型赤血球が、補体の活性化に伴い血管内溶血を起こす。溶血に加え、骨髓不全と血栓症を3大症状とするが、他にも腹痛、嚥下障害、男性機能不全など多彩な症状を呈する。骨髓不全を除く多くの症状が、溶血により血中に遊離したヘモグロビンによる nitric oxide (NO) の吸着によることが判明し、PNH 治療における溶血抑制の重要性が理解されるに至った。

2. エクリズマブの開発

エクリズマブは、C5 と特異的に結合し C5 転換酵素の作用を阻害することで、炎症性メディエータである C5a の放出を阻害するとともに、C5b に引き続く膜破壊性の C5b-9 複合体の生成を阻害するが、病原体のオプソニン化や免疫複合体除去には影響を与えないので、上流の重要な機能は保持される。結

*責任者連絡先:

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2
Tel: 06-6879-3871, Fax: 06-6879-3879
E-mail: junnishi@bldon.med.osaka-u.ac.jp

図1 AEGIS試験における不応例2例の解析¹⁾

A: 血清LDH値を指標にした溶血抑制効果 B: エクリズマブ投与と血清(ピーク/トラフ)を用いた溶血試験 C: エクリズマブ添加による溶血試験 D: N19/8を用いた溶血試験
(●)(○); 不応例, (□); AEGIS試験有効例, (▲); 典型的有効例, (■); 健常人

合部位である相補性決定領域はマウスとヒトのキメラになっている。重鎖定常領域にヒトIgG2とIgG4を組み合わせることにより、Fcレセプターに結合したり、古典経路を活性化しないように工夫されている。600 mgを週1回4週点滴静注し、5週目に900 mg、その後2週毎に900 mgを継続投与する。投与に先立ち髄膜炎菌ワクチン接種が推奨される。2002年に英国で開始された第2相パイロット試験での顕著な溶血抑制効果を受けて、欧米における有効性を判定する二重盲検第3相試験TRIUMPHと安全性を判定する第3相試験SHEPHERDが行われ、継続試験に移行後、2007年に各国で承認に至った。本邦では第2相試験AEGISが2008年に開始され、2010年4月に承認に至っている²⁾。

3. 本邦第2相試験AEGISとエクリズマブ不応例

本邦AEGIS試験においてもこれまでの成績同様、顕著な溶血抑制効果に加え、腎機能改善効果、血栓

予防効果、QOL改善効果など様々な臨床効果が確認されたが、溶血の指標である血清LDH値が全く低下しない不応例を29例中2例に認めた(図1A)⁹⁾。エクリズマブの血中有効濃度である35 μg/mLは、いずれのエクリズマブ投与と血清(ピーク/トラフ)においても維持されていた¹⁾。これら血清による溶血試験では、有効例で投与直後より抑制されたのに対し、不応2例では抑制されなかった(図1B)¹⁾。そこで、エクリズマブ投与前血清にエクリズマブ添加による濃度勾配溶血試験を行ったところ、健常人と有効例は12.5 μg/mLで抑制されたが、不応2例では2000 μg/mLの高濃度でも抑制されなかった(図1C)¹⁾。エクリズマブとC5結合部位の異なる抗体N19/8を用いた溶血試験では、不応2例も健常人や有効例と同様に抑制された(図1D)¹⁾。そこで、C5遺伝子の塩基配列を検索したところ、不応例のエクソン21にヘテロ変異c.2654G>Aを認め、p.Arg885His多型が予測されたが、有効7例には同変異を認めなかった¹⁾。

図2 遺伝子組み換え C5 蛋白のエクリズマブ結合¹⁾
(rC5)；野生型, (rC5m)；変異型

4. 変異 C5 蛋白の機能特性¹⁾

遺伝子組み換え型 C5 蛋白を作成し、蛋白機能特性を検証した。野生型 C5、変異型 C5 はいずれも *in vitro* で溶血を引き起こしたが、エクリズマブと結合し、エクリズマブによって溶血が抑制されたのは野生型 C5 のみであったが、N19/8 抗体に対しては野生型、変異型いずれの C5 によって構築された *in vitro* 溶血も同様に抑制された(図 2)。

5. C5 遺伝子多型の頻度¹⁾

本邦でエクリズマブ承認後、さらに 9 例の不应例が確認され、全例で c.2654G>A ヘテロ変異を確認した。日本人の健常人 288 人(男性 200 人、女性 88 人)で c.2654G>A 変異のスクリーニングを行ったところ、ヘテロ変異を 288 人中 10 人(3.5%)に認めた。本邦 PNH 患者の変異保有率(345 例中 11 例；3.2%)は、健常人における保有率(3.5%)と同程度であった。

おわりに

日本人(アジア)固有の C5 遺伝子多型 c.2654G>A は、C5 補体活性自体には異常をきたさないものの、エクリズマブの結合に影響する重要な変異であり、

図3 抗体医薬不応の機序

その結果、薬剤不応性をきたすと考えられた。このことは、標的蛋白における遺伝子多型が、様々な疾患に対して繁用されている抗体療法の反応性を検討する上で、極めて重要であることを示唆している(図 3)。一日も早い第 2 世代の治療法の確立が望まれる。

著者の利益相反(COI)の開示：
講演料・原稿：アレクシオンファーマ

研究費：アレクシオンファーマ

文献

- 1) Nishimura J, Yamamoto M, Hayashi S, Ohyashiki K, Ando K, Brodsky AL, Noji H, Kitamura K, Eto T, Takahashi T, Masuko M, Matsumoto T, Wano Y, Shichishima T, Shibayama H, Hase M, Li L, Johnson K, Lazarowski A, Tamburini P, Inazawa J, Kinoshita T, Kanakura Y: Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *N Engl J Med* **370**: 632–639, 2014.
- 2) Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T, Okamoto S, Ando K, Ninomiya H, Kawaguchi T, Nakao S, Nakakuma H, Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian CL, Valentine ME, Khursigara G, Ozawa K, Omine M: Safety and efficacy of the terminal complement inhibitor eculizumab in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the AEGIS clinical trial. *Int J Hematol* **93**: 36–46, 2011.