

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 30 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590940

研究課題名(和文)画期的中和抗体定量法を用いたクローン病の生物学的製剤個別化投与アルゴリズムの構築

研究課題名(英文)Development of a new immunoassay for the accurate

研究代表者

安藤 朗 (Andoh, Akira)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：90252395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：IFXの維持療法を受けている患者のIFX投与直前の血中IFX濃度をIFX値とし、このIFX値とATI濃度からクローン病の病態を解析した。58人の患者の解析から、ATI陰性の患者に比べてATI陽性の患者ではIFXトラフ値が有意に低く、血中TNF- α 濃度が有意に高かった。健常人より得られた数値から、ATIのカットオフ値を10.2 μ g/ml、IFXトラフ値のカットオフ値を1 μ g/mlに設定し、臨床経過を解析した。ATI陽性、トラフ値カットオフ以下の患者の多くが二次無効となりIFXの効果減弱例と判断された。これらの患者のATI力価にはばらつきが認められ、ATIカットオフ値近傍の患者が多く認められた。

研究成果の概要(英文)：Our results suggest that ATI levels of ≥ 35 μ g/mL should be the standard indication for dosage increase. For cases where no improvement is evident following dosage increase, switching to other biopharmaceuticals should be considered. Serum infliximab trough levels are correlated with ESR as well as CRP, serum albumin, and fecal calprotectin levels in Crohn's disease patients on infliximab maintenance therapy. The results suggest that serum infliximab trough levels should be ≥ 1.0 μ g/mL for effective therapy, and the dosage of infliximab should be increased when serum infliximab trough levels fall below 1.0 μ g/mL. Increasing the dosage is not effective and efficacious when serum infliximab trough levels cannot be obtained in patients with high ATI levels. Thus, the presence or absence of ATIs is important in determining treatment strategy.

研究分野：内科学

キーワード：炎症性腸疾患

1. 研究開始当初の背景

クローン病は特定疾患として医療費助成制度の対象疾患であり、生物学的製剤の医療費の殆どが公費負担となる。発病初期よりインフリキシマブ(IFX)と免疫調節剤を併用して治療を開始する Top-down の治療戦略が導入され、速やかに寛解導入を達成しステロイドからの早期離脱と再発率、手術率の低減を目指す考え方の浸透が高い生物学的製剤の使用率に影響している。

IFXによる寛解導入に成功した症例の約30-50%が維持療法継続中にIFXに対する効果減弱をきたす(二次無効)。IFXによる維持療法中の症例の約13%が毎年二次無効にいたるとされる。ADAのメタ解析でも37%の患者に効果減弱が報告されている。二次無効は、基本的な8週間毎のインフリキシマブ、2週間毎のアダリムマブ投与で寛解が維持できないため投与間隔の短縮や投与量の増量が必要な患者とも言い換えることができる。

二次無効の原因としてさまざまな因子の関与が考えられている。例えば抗TNF-抗体の消費速度が亢進して(TNF-の産生が亢進している)十分な抗TNF-抗体の血中・組織内濃度が維持できない状態、中心的に関与しているサイトカインがTNF-から他のサイトカインにシフトした状態、IBDと異なる病態の関与(過敏性腸症候群の症状の出現、感染の合併)などである。なかでも、最も重要と考えられているのが、抗TNF-抗体の免疫原性と関連して生ずる中和抗体の影響である。中和抗体の出現は、抗TNF-抗体の血中濃度低下、活性低下、薬剤クリアランスの亢進をきたし二次無効の原因となる。特にIFXはマウス蛋白の構造を含むため抗IFX抗体(ATI: anti-infliximab antibody)の出現が予想されるが、全ヒト型のADAでも抗体(AAA: anti-adalimumab antibodies)の出現の可能性が示唆されている。最近、IFX二次無効例への対応として、血中ATIとIFXトラフ濃度を測定して治療ADAを構築する試みが報告されている。

2. 研究の目的

二種類の抗TNF-製剤(インフリキシマブとアダリムマブ)の血中濃度測定系および中和抗体測定系を確立する。

3. 研究の方法

インフリキシマブ(IFX)とアダリムマブ(ADA)のELISA測定系を確立した。血清中で免疫複合体を形成しているIFX-抗IFX抗体(ATI)複合体をprotein-Aビーズで捕捉し酸性緩衝液で処理することにより、IFXとATIを解離する。解離したATIをプラスチックプレートに固相化し、これをペルオキシダーゼ標識IFXでdetectするATI測定系も確立した。抗アダリムマブ抗体(AAA)も同様の方法で測定可能である。

4. 研究成果

IFXの維持療法を受けている患者のIFX投与直前の血中IFX濃度をIFX値とし、このIFX値とATI濃度からクローン病の病態を解析した(図1)。58人の患者の解析から、ATI陰性の患者に比べてATI陽性の患者ではIFXトラフ値が有意に低く、血中TNF-濃度が有意に高かった。健康人より得られた数値から、ATIのカットオフ値を10.2µg/ml、IFXトラフ値のカットオフ値を1µg/mlに設定し、臨床経過を解析した。ATI陽性、トラフ値カットオフ以下の患者の多くが二次無効となりIFXの効果減弱例と判断された。ただ、これらの患者のATI力価にはばらつきが認められ、非常に高値を示す患者に比べ、ATIカットオフ値近傍の患者が多く認められた。

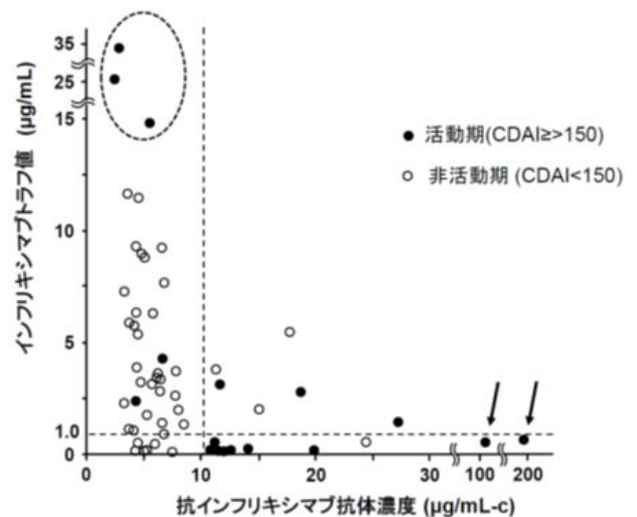


図1. IFXトラフ値と抗IFX抗体濃度の関係

ATI陽性にもかかわらずトラフ値陽性でIFXの効果が持続している患者は、血中のATIがIFXに対する中和活性を持っていないと考えられる。ATI陽性、トラフ値陽性で二次無効となっている患者では、現在の病態形成にTNF-の関与が低いと考えられADAの効果も期待できない。TNF-以外の治療標的を目指す治療への変更が必要と考えられる。

ATI陰性の患者の多くは良好な経過であるが、数人の患者ではインフリキシマブトラフ値が非常に高いにもかかわらずインフリキシマブの効果が得られていない患者が存在する。これらの患者ではインフリキシマブの消費が低い、すなわち現在の病態にTNF-が関与していないと考えられる。これらの患者は内視鏡検査でも活動病変は認められず、CRPも陰性で、過敏性腸症候群の治療が奏功した。

IFX二次無効例ではIFXトラフ値とATIを測定し、ATI高値の患者は容易にAAA陽性になりやすいことからADAへの変更よりもIFX増量が適応になると考えられる。ATI低値の

患者では ADA への変更も有効かもしれないが、
 確実なのは IFX の増量であろう。さらに、
 基本的な考え方として、一端 IFX を投与して ATI
 陽性となると AAA が容易に誘導されてしまう
 ので、バイオナーブ症例はまず ADA で治療を
 開始して一次無効、効果減弱が認められるよ
 うなら IFX に変更するような戦略が
 基本のように思われる。



図 2 . インフリキシマブ投与のアルゴリズム

21 世紀は個別化医療の時代と言われて
 いる。生物学的製剤の強力な効果を効率よく
 ひきだすことは、医療経済的な効果も期待さ
 れる。現在、IBD の診断、治療に有用なバイ
 オマーカーの探索が進んでいるが、バイオマ
 ーカーを活用して得られる患者情報に基づ
 いた IBD 診療が展開される時代も近いと思わ
 れる。今後、さらなる症例の積み重ねから、
 我々の開発した方法の有用性を検証したい。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
 は下線)

[雑誌論文](計 10 件)

- 1 . Andoh A, Kobayashi T, Kuzuoka H, Tsujikawa T, Suzuki Y, Hirai F, Matsui T, Nakamura S, Matsumoto T, Fujiyama Y. Characterization of gut microbiota profiles by disease activity in patients with Crohn's disease using data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphisms. Biomed Rep. 2014 May;2(3):370-373 (査読あり)
- 2 . Andoh A, Kobayashi T, Kuzuoka H, Suzuki Y, Matsui T, Nakamura S, Matsumoto T, Fujiyama Y, Bamba T. Data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphism shows geographical differences in the human gut microbiota. Biomed Rep. 2013 Jul;1(4):559-562. (査読あり)
- 3 . Honzawa Y, Nakase H, Shiokawa M, Yoshino T, Imaeda H, Matsuura M,

Kodama Y, Ikeuchi H, Andoh A, Sakai Y, Nagata K, Chiba T. Involvement of interleukin-17A-induced expression of heat shock protein 47 in intestinal fibrosis in Crohn's disease. Gut. 2014 Dec;63(12):1902-12. (査読あり)

- 4 . Kanauchi O, Andoh A, Mitsuyama K. Effects of the modulation of microbiota on the gastrointestinal immune system and bowel function. J Agric Food Chem. 2013 Oct 23;61(42):9977-83. (査読あり)
- 5 . Imaeda H1, Bamba S, Takahashi K, Fujimoto T, Ban H, Tsujikawa T, Sasaki M, Fujiyama Y, Andoh A. Relationship between serum infliximab trough levels and endoscopic activities in patients with Crohn's disease under scheduled maintenance treatment. J Gastroenterol. 2014 Apr;49(4):674-82. (査読あり)
- 6 . Takahashi K1, Imaeda H, Fujimoto T, Ban H, Bamba S, Tsujikawa T, Sasaki M, Fujiyama Y, Andoh A. Regulation of eotaxin-3/CC chemokine ligand 26 expression by T helper type 2 cytokines in human colonic myofibroblasts Clin Exp Immunol. 2013 Aug;173(2):323-31. (査読あり)
- 7 . Kanauchi O, Mitsuyama K, Andoh A. The new prophylactic strategy for colon cancer in inflammatory bowel disease by modulating microbiota. Scand J Gastroenterol. 2013 Apr;48(4):387-400. (査読あり)
- 8 . Fujimoto T, Imaeda H, Takahashi K, Kasumi E, Bamba S, Fujiyama Y, Andoh A. Decreased abundance of Faecalibacterium prausnitzii in the gut microbiota of Crohn's disease. J Gastroenterol Hepatol. 2013 Apr;28(4):613-9(査読あり)
- 9 . Okuyama Y, Andoh A, Nishishita M, Fukunaga K, Kamikozuru K, Yokoyama Y, Ueno Y, Tanaka S, Kuge H, Yoshikawa S, Sugahara A, Anami E, Munetomo Y, Watanabe C, Fujiyama Y, Matsumoto T. Multicenter prospective study for clinical and endoscopic efficacies of leukocytapheresis therapy in patients with ulcerative colitis. Scand J Gastroenterol. 2013 Apr;48(4):412-8(査読あり)
- 10 . Imaeda H, Takahashi K, Fujimoto T, Kasumi E, Ban H, Bamba S, Sonoda H, Shimizu T, Fujiyama Y, Andoh A. Epithelial expression of interleukin-37b in inflammatory bowel disease. Clin Exp Immunol.

2013 Jun;172(3):410-6. (査読あり)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安藤 朗 (ANDOH, Akira)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：90252395