

氏 名 森田 康大

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第 893

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項

学 位 授 与 年 月 日 令和 3 年 3 月 9 日

学 位 論 文 題 目 Clinical relevance of innovative immunoassays for serum ustekinumab and anti-ustekinumab antibody levels in Crohn' s disease

(クローン病患者における血清ウステキヌマブ濃度、抗ウステキヌマブ抗体濃度の革新的なイムノアッセイ法の臨床的関連性)

審 査 委 員 主査 教授 依馬 正次

副査 教授 宇田川 潤

副査 教授 縣 保年

## 論文内容要旨

※整理番号	902	(ふりがな) 氏名	もりた やすひろ 森田 康大
学位論文題目	Clinical relevance of innovative immunoassays for serum ustekinumab and anti-ustekinumab antibody levels in Crohn's disease (クローン病患者における血清ウステキヌマブ濃度、抗ウステキヌマブ抗体濃度の革新的なイムノアッセイ法の臨床的関連性)		
<p>【研究の目的】潰瘍性大腸炎やクローン病を代表とする炎症性腸疾患（以下 IBD）は原因不明の慢性再燃性消化管炎症疾患である。抗 TNF 抗体製剤をはじめ、近年様々な機序の生物学的製剤が登場してきている。ウステキヌマブは、ヒト IL-12/IL-23 の共通サブユニットである p40 に対するヒトモノクローナル抗体（抗 p40 抗体）製剤である。私たちは血清ウステキヌマブ濃度および抗ウステキヌマブ抗体（以下 AUA）濃度測定について、新規の測定法を考案した。その新規測定法の臨床的有用性を評価することを目的に検討を行った。</p> <p>【方法】日本国内の 5 つの学術病院において、ウステキヌマブ維持投与中のクローン病患者 38 人を対象とした。血清ウステキヌマブ濃度は、非特異的なたんぱく質結合を最小限に抑えるために、アビジン ELISA プレートを使用し測定した。また、AUA 濃度は、患者血清中に存在するウステキヌマブと AUA の免疫複合体を 0.1M グリシン-HCL バッファーを用いて分離した後に、プロテイン G ビーズを用いて IgG を単離したものを、ELISA プレート上に固相化し、HRP 標識ウステキヌマブで検出し測定した。</p> <p>それら患者の血清ウステキヌマブトラフ濃度、AUA 濃度と、CRP、赤沈、血清アルブミン等の各種臨床パラメーターとの相関を検討した。</p> <p>【結果】非特異的 IgG 結合が防止できていることを確認する目的に、健常者血清でウステキヌマブを希釈し、濃度が既知のウステキヌマブ (0,1,2,3,5 μg/mL) を調整した。調整したウステキヌマブの濃度を新規測定法で測定し、測定結果が一致することを確認した。患者の平均血清ウステキヌマブトラフ濃度は 2.54±2.1 μg/mL であった。また 38 人の患者のうち 3 人 (7.9%) が AUA 陽性であった。AUA 陽性患者から単離された IgG が、ニトロセルロース膜に固定したウステキヌマブと反応することをウェスタンブロット法を用いて確認した。血清ウステキヌマブトラフ濃度と AUA 濃度の間に関連は認めなかった。また ROC 解析により CRP 正常 (≤0.3mg/dL) のウステキヌマブトラフ濃度のカットオフ値が 1.67 μg/mL であることが示された。ウステキヌマブのトラフ濃度は、CRP、赤沈、クローン病活動度指数（以下 CDAI）と負の相関、血清アルブミンと正の相関を認めた。過去に生物学的製剤を使用していない患者群の方が、過去に生物学的製剤を使用した患者群よりも血清ウステキヌマブトラフ濃度は有意に高かった。一方で AUA 濃度は両群に差は認めなかった。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。  
2. ※印の欄には記入しないこと。

【考察】血清ウステキヌマブ濃度および AUA 濃度の新規測定法の日常臨床での有用性について検討を行った。新規測定法は安価であり、放射性同位元素や抗ウステキヌマブイディオタイプ抗体などの特別な材料を必要としない。またヒト IgG 抗体製剤であるウステキヌマブは、非特異的結合を容易に生じるが、特殊 ELISA プレートを使用し、血清 IgG の非特異的結合を完全に防止した。この点が本測定法の最も重要な工程である。

従来の抗薬物抗体の測定方法は、抗薬物抗体検出のために、捕捉抗体と検出抗体の両方にその薬物が使用される方法であった。しかし、この従来の方法では、患者の血清中の薬物が、抗薬物抗体と免疫複合体を形成し、酵素標識薬物による検出が阻害されていた。一方、新規の測定方法においては、酸緩衝液を使用することで、ウステキヌマブ-AUA 免疫複合体の形成を阻害し、HRP を標識したウステキヌマブで AUA をより正確に検出することが可能となった。

本研究と同様の測定方法を用いて、他の生物学的製剤であるインフリキシマブ、アダリムマブの抗薬物抗体の陽性率が、それぞれ 27.6% と 35% であることを過去に報告した。このことから、インフリキシマブやアダリムマブと比較して、ウステキヌマブの免疫原性は低いことが示された。

これまでの検討で、他の生物学的製剤であるインフリキシマブとアダリムマブにおいては、血清中の薬物濃度と抗薬物抗体濃度の間に負の有意な相関があることが示されている。しかし、本研究においては血清ウステキヌマブトラフ濃度と AUA に関連は認められなかった。これはウステキヌマブの免疫原性が低いためと考えられる。

生物学的製剤の使用歴がある患者よりも、生物学的製剤使用歴のない患者でウステキヌマブは効果的であり、その血清ウステキヌマブトラフ濃度も高いということが、世界的な臨床試験で報告されている。生物学的製剤の使用歴がある患者においては、抗薬物抗体が産生されやすくなり、血清トラフ濃度が低くなることを我々は過去に報告した。本研究では、他の報告と同様に、過去に生物学的製剤を使用している患者においては、生物学的製剤を使用していない患者よりも、血清ウステキヌマブトラフ濃度は高い結果であった。しかし生物学的製剤を使用した患者では AUA レベルの上昇は認めなかった。

【結論】血清ウステキヌマブトラフ濃度および AUA 濃度測定の新規測定法を作成した。またウステキヌマブの免疫原性は、インフリキシマブやアダリムマブなどの TNF $\alpha$  抗体製剤と比較して非常に低く、ウステキヌマブに対する反応性喪失の発生率は低いことが示された。この新規測定法により、ウステキヌマブ投与中のクローン病患者の薬物治療モニタリングへの新しい洞察を提供することができた。

博士論文審査の結果の要旨

整理番号	902	氏名	森田 康大
論文審査委員			
<p>(博士論文審査の結果の要旨)</p> <p>潰瘍性大腸炎やクローン病を代表とする炎症性腸疾患は原因不明の慢性再燃性消化管炎症疾患である。抗TNF抗体製剤をはじめ、近年様々な機序の生物学的製剤が登場してきている。ウステキヌマブは、ヒトIL-12 / IL-23の共通サブユニットであるp40に対するヒトモノクローナル抗体(抗p40抗体)製剤である。本論文では、血清ウステキヌマブ濃度および抗ウステキヌマブ抗体濃度測定について、新規の測定法を考案し、その新規測定法の臨床的有用性を評価することを目的に検討を行った。本論文では、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) CRP正常を示唆するウステキヌマブトラフ濃度のカットオフ値は、1.67 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>であった。</li> <li>2) 抗ウステキヌマブ抗体の陽性者は3/38名 (7.9%) であった。</li> <li>3) ウステキヌマブトラフ濃度とCRP、赤沈、CDAI、アルブミンは有意な相関を認めた。</li> <li>4) 生物学的製剤使用歴のない患者群では、ウステキヌマブトラフ濃度は有意に高かった。</li> </ol> <p>以上より、本論文は、血清ウステキヌマブ濃度および抗ウステキヌマブ抗体濃度測定について、新規の測定法を確立し、その新規測定法の臨床的有用性を確認したものであった。また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数523字)</p> <p style="text-align: right;">( 令和3年 1月 27日)</p>			