HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ASKP1240, a Fully Human Anti-CD40 Monoclonal Antibody, Prolongs Pancreatic Islet Allograft Survival in Nonhuman Primates [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	渡辺, 正明
Description	配架番号：2059
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11066号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53796
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masaaki_Watanabe_abstract.pdf, 「論文内容の要旨」

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　渡辺 正明

学 位 論 文 題 名

ASKP1240, a Fully Human Anti-CD40 Monoclonal Antibody,

Prolongs Pancreatic Islet Allograft Survival in Nonhuman Primates

（カニクイザル膵島移植モデルにおける完全ヒト抗 CD40 抗体、

ASKP1240 のアロ膵島生着期間延長効果）

【背景と目的】膵島移植は、特に 1 型糖尿病に対する治療法として確立され、近年より少ない膵島量で治療効果が得られるように改善されてきている. しかしながら免疫抑制剤に起因する有害事象は、依然として移植膵島の長期生着を妨げる大きな原因となっている．カルシニュリンインヒビターは、膵島移植後のステロイドを用いない免疫抑制法における第一選択薬であるが、腎毒性や糖尿病誘導といった有害事象を有する．また、同様に膵島移植後に使用される免疫抑制剤、シロリムスには、膵臓 β 細胞の活性を下げ、さらに移植膵島の生着をも抑制すると報告されている. 臨床膵島移植のさらなる改善には、新たな免疫抑制法の確立が必要である．CD40-CD154 副刺激経路は、T 細胞の活性やアロ免疫応答、さらには液性免疫応答にも深く関与している. 移植後に CD40-CD 154 副刺激経路を遮断することにより、アロ特異的な免疫抑制効果や免疫寛容が誘導されることが報告されている. 霊長類を用いた膵島移植後に抗 CD154 抗体を投与すると、移植膵島生着期間が著明に延長したが、抗 CD154 抗体の有する血栓形成作用により、臨床応用は困難となった．一方、抗 CD40 抗体(chi220、3A8、2C10)の霊長類膵島移植後の移植膵島生着期間の延長効果は中等度であった．新規に開発された完全ヒトモノクローナル抗 CD40 抗体、ASKP1240 は、カニクイザル腎移植モデルにおける導入・維持療法において免疫抑制効果を示し、Tacrolimus との併用効果を認めた. さらにカニクイザル肝臓移植モデルにおいても上記免疫抑制効果を発揮し、加えて明らかな副作用を認めず臨床への応用が期待できた. 本研究では、これら腎・肝移植のデータを基に、ASKP1240 の膵島移植における免疫抑制療法の可能性を調べることを目的に, カニクイザル膵島移植モデルを用いて抗体の活性を評価した.

【材料と方法】12 頭のカニクイザル(年齢: 5.2±0.9 年, 体重：5.3±0.8 kg)に膵臓全摘出術を施行し、糖尿病を誘導した. 膵臓全摘出術の 2 週間後に ABO 血液型一致ドナー(年齢: 4.9±0.7 年, 体重: 5.2±1.1 kg, MLR: SI>4.6)の膵島を経門脈的に肝臓内に移植した．導入療法群(n=5)には、ASKP1240 (10 mg/kg)を移植当日、4、7、11、14 日目に静脈内投与した．維持療法群(n=4)には、さらに ASKP1240 (5 mg/kg)を週 1 回、6 か月目まで投与した．移植後に血糖を測定し、空腹時血糖が 3 日連続で 250 mg/dl 以上を拒絶と定義し、膵島グラフト生着期間を評価した．さらに、血中 C-peptide 値、インスリン値、静脈内耐糖能試験(IVGTT) により移植膵島グラフト機能を評価した．末梢血中の白血球の phenotype、血中 ASKP1240 値、抗 ASKP1240 抗体を測定し、細胞性免疫応答を抗ドナー細胞性免疫反応(IFN-γ ELISpot)で、液性免疫応答を抗ドナー抗体(抗ドナーIgG 抗体)でそれぞれ評価した．肝臓内に移植された膵島を免疫組織学的に評価した.

【結果】膵臓全摘出後、糖尿病誘導を IVGTT における高血糖の維持、血中 C-peptide 及びインスリン値の不応答及び不検出により確認した．同種間膵島移植(8,201-12,438 IEQ/kg)後、全例で血糖が正常化した．無治療のコントロール群では、9 日以内に拒絶された(n=3)．血中

の C-peptide 値は、拒絶翌日には検出感度以下となった．一方、導入療法群では、2 頭が 15、23 日目に血糖正常のまま犠牲死(内ヘルニア、腹膜炎)した．2 頭が 210、250 日目にそれぞれ拒絶されたが、1 頭は血糖正常のまま観察期間を終えた(>608 日)．維持療法群では、2 頭が 96、115 日目に血糖正常の状態で犠牲死(消化管蠕動不良)し、1 頭は 523 日目に拒絶されたが、1 頭は血糖正常のまま観察期間を終えた(>607 日)．ASKP1240 治療群では、移植後 IVGTT において、血糖値、C-peptide 値、インスリン値は正常パターンを示した．血中 ASKP1240 トラフレベルは、導入療法群では移植後 60 日目に検出感度以下となったが、維持療法群では移植後 200 日目まで保たれた．免疫学的解析において、ASKP1240 投与群で、抗ドナー細胞性免疫反応、及び抗ドナー抗体産生は ASKP1240 投与期間中、強く抑制された．しかしながら、拒絶を示した 3 頭(導入療法群の 2 頭と維持療法群の 1 頭)では、抗ドナー細胞性免疫反応が徐々に増加し、さらに抗ドナー抗体が陽転化した後に血糖が上昇し、拒絶された．一方、拒絶を示さなかった 2 頭(導入療法群の 1 頭と、維持療法群の 1 頭)では、全観察期間に渡って、それら両免疫反応は完全に抑制され、さらに組織学的解析においても移植膵島への細胞浸潤(CD3、CD4 及び CD8 陽性細胞)は認められなかった．観察期間終了時(移植後 607、608 日目)の IVGTT において、血糖値、C-peptide 値、インスリン値は正常パターンを示した．末梢血中の白血球の phenotype 解析では、特に拒絶を示さなかった 2 頭において CD4 陽性 T 細胞の増加、及び CD20 陽性 B 細胞の ASKP1240 投与終了後の増加が見られた．ASKP1240 投与群において、血栓症を含む有害事象は確認されなかった．

【考察】カニクイザル腎臓、肝臓移植モデルを用いた ASKP1240 の効果の検討では、導入療法群では、移植臓器の生着期間延長効果はあるものの、最終的には慢性拒絶に陥った．この結果は、本研究の導入療法群の結果と異なるものである．これは、膵島内に僅かに存在する白血球が弱く MHC class II を発現するものの、膵島自体は MHC class I のみを発現するといった移植臓器の免疫学的特性の異差が関与している可能性がある．ASKP1240 によるドナー抗原特異的な免疫抑制の有無に関しては、拒絶を示さず長期生着した 2 頭では、抗ドナー細胞性免疫反応抗は一貫して抑制されていたが、ASKP1240 投与終了後、抗 3rd party 細胞性免疫反応は回復が見られた．同様に、CD4 陽性 T 細胞や CD20 陽性 B 細胞の増加が見られた．臨床肝臓移植、腎臓移植後の operational tolerance 症例では、末梢血中の $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 細胞や γδ TCR^+ T 細胞、CD20 陽性 B 細胞の上昇が見られると報告されている．しかしながら、膵島移植とこれら phenotype、及び免疫寛容との関連については不明であり、ドナー抗原特異的な免疫抑制については、さらなる検討の必要がある．なお、本研究では、T-reg 誘導は確認されなかった．近年、膵島移植における液性免疫反応の制御が注目され、移植前の抗 HLA 抗体陽性患者の膵島移植後の成績不良が報告されている．拒絶を示さず長期生着した 2 頭では、抗ドナー細胞性免疫反応のみならず、抗ドナー抗体産生も抑制されていた．ASKP1240 は、細胞性・液性免疫双方を抑制できるとう観点から、膵島移植後の免疫抑制剤としては、より効果が期待される．

【結論】ASKP1240 は、カニクイザル膵島移植モデルにおいて、細胞性･液性双方のアロ免疫応答を抑制し、膵島生着期間を著明に延長した．ASKP1240 は、臨床膵島移植おいて有用な免疫抑制剤になり得る．